



**Sandra Isabel Marques de Carvalho** **Propriedades da matéria orgânica macromolecular  
proveniente de efluentes de fábricas de pasta de  
papel**



**Sandra Isabel Marques de Carvalho** **Propriedades da matéria orgânica macromolecular provenientes de efluentes de fábricas de pasta de papel**

dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Métodos Instrumentais e Controlo de Qualidade Analítica, realizada sob a orientação científica da Doutora Eduarda Bastos Henriques dos Santos, Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

## **o júri**

presidente

**Prof. Doutor Armando da Costa Duarte**

Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Prof. Doutora Maria Cristina Guiomar Antunes**

Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Prof. Doutora Eduarda Bastos Henriques dos Santos**

Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

## **agradecimentos**

À Prof. Doutora Eduarda B. H. Santos, pela orientação, críticas e sugestões e pela constante disponibilidade para a transmissão dos seus vastos conhecimentos.

Ao João, o meu mais profundo agradecimento pela compreensão, apoio e carinho.

À Paula Fonseca, companheira e amiga desde o primeiro dia.

À Ana Mendonça e à Regina Duarte, pela amizade e por todo o apoio.

## resumo

O presente trabalho teve por objectivo a verificação das alterações estruturais e da distribuição de tamanhos moleculares da matéria orgânica dissolvida do efluente global de uma fábrica de pasta de papel kraft quando exposta à luz solar.

Para o efeito, foram preparadas soluções de ácidos fúlvicos previamente extraídos do efluente, as quais foram caracterizadas antes e após exposição solar através da aplicação das técnicas analíticas de UV-Vis e de FM. Os ácidos fúlvicos das soluções sujeitas a exposição solar foram extraídos e caracterizados pelas mesmas técnicas e ainda por FTIR e  $^{13}\text{C}$  RMN. As alterações na distribuição de tamanhos moleculares resultantes da exposição solar foram estudadas pela aplicação da técnica de ultrafiltração em conjunto com a utilização de equações matemáticas que modelam a permeação de solutos através de membranas de ultrafiltração.

A caracterização espectroscópica revelou que as principais alterações estruturais provocadas pela exposição à luz solar correspondem à degradação de estruturas típicas da lenhina e à diminuição da aromaticidade.

O fraccionamento por ultrafiltração mostrou que a exposição solar provoca uma diminuição dos tamanhos moleculares da matéria orgânica do efluente.

## **abstract**

The aim of the present work was to check the structural and dissolved organic matter molecular sizes distribution changes that occur on a kraft pulp mill effluent after solar exposure.

For this purpose, solutions of fulvic acids previously extracted from effluent were prepared and characterized before and after solar exposure through UV Vis and MF techniques. The fulvic acids from solar exposed solutions were extracted and characterized through the above techniques as well as FTIR and  $^{13}\text{C}$  RMN. Solar exposure induced molecular sizes distribution changes were assessed by a combination of ultrafiltration technique with ultrafiltration membrane solute permeation modelling mathematic equations.

Spectroscopic characterization showed lignin typical structures degradation and reduced aromaticity as a result of solar exposure.

Ultrafiltration fractionation revealed a decrease of effluent organic matter molecular sizes from solar exposure.

# Índice

<b>Índice</b>	<b>xiii</b>
<b>Lista de Tabelas</b>	<b>xvii</b>
<b>Lista de Figuras</b>	<b>xix</b>
<b>1. OBJECTIVO</b>	<b>1</b>
<b>2. INTRODUÇÃO</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Composição química da madeira</b>	<b>7</b>
2.1.1 Compostos macromoleculares	8
2.1.1.1 Celulose	9
2.1.1.2 Hemiceluloses	10
2.1.1.3 Lenhina	10
2.1.2 Compostos de baixo peso molecular	12
<b>2.2 Processo sulfato (Kraft) de produção de pasta de papel</b>	<b>13</b>
<b>2.3 Efluentes provenientes de fábricas de pasta de papel e problemas ambientais associados à sua descarga</b>	<b>16</b>
2.3.1 Características dos efluentes provenientes de fábricas de papel	17
2.3.1.1 Fração de baixo peso molecular	18
2.3.1.2 Fração de elevado peso molecular	19
2.3.2 Problemas ambientais associados à descarga dos efluentes	21
<b>2.4 Papel da radiação solar na degradação da matéria orgânica dissolvida nos efluentes</b>	<b>22</b>

<b>2.5</b>	<b>O fracionamento como técnica de caracterização da matéria orgânica dissolvida nos efluentes</b>	<b>33</b>
<b>2.6</b>	<b>Referências</b>	<b>37</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>43</b>
<b>3.1</b>	<b>Degradação fotoquímica dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global de uma fábrica de pasta kraft branqueada</b>	<b>45</b>
3.1.1	Amostra de ácidos fúlvicos	45
3.1.2	Preparação e exposição solar das soluções de ácidos fúlvicos	46
3.1.3	Acompanhamento das experiências de degradação fotoquímica das soluções	46
3.1.4	Extracção, dessalinização, protonação e liofilização dos ácidos fúlvicos das soluções expostas à radiação solar para posterior caracterização espectroscópica	47
3.1.5	Caracterização espectroscópica dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à luz solar	48
<b>3.2</b>	<b>Caracterização espectroscópica</b>	<b>48</b>
3.2.1	Espectroscopia de Fluorescência Molecular Síncrona (FMS)	48
3.2.2	Espectroscopia de Ultravioleta- Visível (UV- Vis)	49
3.2.3	Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier (FTIR)	49
3.2.4	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ do Estado Sólido ( $^{13}\text{C}$ - RMN)	49
<b>3.3</b>	<b>Fracionamento dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global, de uma solução de ácidos fúlvicos após exposição solar e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar</b>	<b>50</b>
3.3.1	Preparação das soluções de ácidos fúlvicos para a ultrafiltração	50



3.3.2	Ultrafiltração sequencial das soluções de ácidos fúlvicos _____	50
3.3.3	Aplicação dos modelos matemáticos de permeação _____	52
<b>3.4</b>	<b>Referências _____</b>	<b>54</b>
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO _____</b>	<b>55</b>
<b>4.1</b>	<b>Acompanhamento das experiências de degradação das soluções de ácidos fúlvicos por acção da luz solar _____</b>	<b>57</b>
4.1.1	Experiências realizadas e energia solar ( $\text{J/m}^2$ ) recebida durante a exposição solar _____	57
4.1.2	Variação do pH das soluções de ácidos fúlvicos durante a exposição solar _	58
4.1.3	Espectroscopia de UV- Vis _____	59
4.1.4	Espectroscopia de Fluorescência Molecular _____	66
<b>4.2</b>	<b>Caracterização espectroscópica dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar _____</b>	<b>69</b>
4.2.1	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ do Estado Sólido ( $^{13}\text{C}$ -RMN) _____	70
4.2.2	Espectroscopia de FTIR _____	75
4.2.3	Espectroscopia de Fluorescência Molecular _____	80
4.2.4	Espectroscopia de UV- Vis _____	82
<b>4.3</b>	<b>Ultrafiltração sequencial dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global, de uma solução após exposição solar e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar _____</b>	<b>87</b>
4.3.1	Coeficientes de permeação obtidos por ultrafiltração sequencial _____	87
4.3.2	Distribuição por tamanhos moleculares obtida por ultrafiltração sequencial__	92
<b>4.4</b>	<b>Referências _____</b>	<b>94</b>



# Lista de Tabelas

Tabela 2.1 – Compostos biodisponíveis com origem na matéria orgânica dissolvida após sofrerem processo fotoquímico_____	29
Tabela 2.1 (continuação)- Compostos biodisponíveis com origem na matéria orgânica dissolvida após sofrerem processo fotoquímico_____	30
Tabela 4.1 – Quadro resumo das condições das experiências realizadas_____	57
Tabela 4.2 – Valores do pH das soluções expostas à radiação solar e nas soluções controlo das diferentes experiências_____	58
Tabela 4.3 – Principais zonas de desvios químicos nos espectros de substâncias húmicas_____	70
Tabela 4.4 – Estimativas dos declives, das ordenadas na origem e dos coeficientes de correlação das representações gráficas da Figura 4.18_____	89
Tabela 4.5 – Coeficientes de permeação dos diferentes ácidos fúlvicos calculados para cada uma das membranas utilizadas_____	90
Tabela 4.6 – Percentagens (%) de distribuição por tamanhos moleculares dos diferentes ácidos fúlvicos obtidos na ultrafiltração sequencial no modo de concentração_____	92



# Lista de Figuras

Figura 2.1 – Esquema geral dos compostos químicos da madeira_____	8
Figura 2.2 – Secção transversal de uma célula vegetal onde é possível observar a lamela mediana (M), a parede primária (P) e a camada exterior (S <sub>1</sub> ), a camada mediana (S <sub>2</sub> ) e a lamela interna da parede secundária (S <sub>3</sub> )____	9
Figura 2.3 – Segmento da cadeia de celulose, evidenciando as ligações glicosídicas entre os átomos de carbono 1 e 4 das unidades β-D-glucopirranose, com os grupos hidroxilo e hidroximetilo equatorialmente orientados____	9
Figura 2.4 – Representação simplificada de um segmento de lenhina de madeira macia na qual são evidenciadas as principais ligações entre as unidades de fenilpropano_____	11
Figura 2.5 – Unidades de fenilpropano constituintes da molécula de lenhina_____	12
Figura 2.6 – Exemplo de um esquema de produção de pasta crua através do processo Kraft._____	14
Figura 2.7 – Classificação do AOX do efluente proveniente de uma sequência convencional de produção de pasta e branqueamento kraft_____	18
Figura 2.8 – Exemplo da fotólise directa na conversão de uma substância orgânica clorada numa substância fenólica. O símbolo “*” indica um estado electronicamente excitado_____	24
Figura 2.9 – Esquema das reacções resultantes da absorção da luz solar pelas substâncias orgânicas. O símbolo “S” representa genericamente a componente reactiva das substâncias húmicas; o símbolo “RH” representa os vários substratos que participam nas reacções químicas e o símbolo “*” indica que a molécula se encontra num estado electronicamente excitado_____	26
Figura 3.1 – Esquema do procedimento de ultrafiltração sequencial no modo de concentração_____	51
Figura 4.1 – Espectros de UV-Vis (230-500nm) das soluções de ácidos fúlvicos iniciais ( <b>AFi</b> ) e das mesmas soluções após exposição solar ( <b>AFe</b> ) da 1ª ( <b>a</b> ), da 2ª ( <b>b</b> ), da 3ª ( <b>c</b> ) e da 4ª ( <b>d</b> ) experiências_____	60

- Figura 4.2 – Percentagem de perdas (%) da absorvância observadas aos comprimentos de onda de 250nm, de 280nm e de 365nm nas soluções controlo **(a)** e nas soluções após exposição solar **(b)** nas quatro experiências, relativamente às respectivas soluções iniciais\_\_\_\_ 62
- Figura 4.3 – Razão  $E_2/E_3$  para as soluções iniciais (■), soluções controlo (▲) e soluções expostas à radiação solar (◆), correspondentes a cada uma das experiências\_\_\_\_\_ 65
- Figura 4.4 – Espectros de FMS ( $\Delta\lambda=60\text{nm}$ ) das soluções de ácidos fúlvicos iniciais **(AFi)** e das mesmas soluções após exposição solar **(AFe)** da 2ª **(a)**, da 3ª **(b)** e da 4ª **(c)** experiências\_\_\_\_\_ 67
- Figura 4.5 – Espectros de FMS ( $\Delta\lambda=60\text{nm}$ ) das soluções de ácidos fúlvicos iniciais **(AFi)** e da solução controlo **(AFc)** da 4ª experiência\_\_\_\_\_ 68
- Figura 4.6 – Percentagem de perdas (%) da intensidade da fluorescência observadas aos  $\lambda_{\text{excitação}}=280\text{nm}$  e  $\lambda_{\text{excitação}}=320\text{nm}$  nas soluções após exposição solar em três experiências, relativamente às respectivas soluções iniciais\_\_\_\_\_ 68
- Figura 4.7 – Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN dos ácidos fúlvicos iniciais **(AFi)** e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar **(AFe)** da 4ª experiência\_\_\_\_\_ 71
- Figura 4.8 – Unidades siringilo **(S)** e guaiacilo **(G)** das lenhinas\_\_\_\_\_ 72
- Figura 4.9 – Espectros de infravermelho na região de  $4000$  a  $600\text{ cm}^{-1}$  dos ácidos fúlvicos iniciais **(AFi)** e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar das 2ª **(AFe (a))**, 3ª **(AFe (b))** e 4ª **(AFe (c))** experiências\_\_\_\_\_ 76
- Figura 4.10 – Espectros de infravermelho na região de  $1700$  a  $800\text{ cm}^{-1}$  dos ácidos fúlvicos iniciais **(AFi)** e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar das 2ª **(AFe (a))**, 3ª **(AFe (b))** e 4ª **(AFe (c))** experiências\_\_\_\_\_ 77

- Figura 4.11 – Espectros de infravermelho na região de 1000 a 800  $\text{cm}^{-1}$  dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar das 2ª (**AF2** (a)), 3ª (**AF3** (b)) e 4ª (**AF4** (c)) experiências\_\_\_\_\_ 80
- Figura 4.12 – Espectros de FMS ( $\Delta\lambda=60\text{nm}$ ) dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente\_\_\_\_\_ 81
- Figura 4.13 – Diminuição (%) da intensidade específica de fluorescência ( $\text{g}^{-1}\text{L}$ ) observadas aos  $\lambda_{\text{excitação}}=280\text{nm}$  e  $\lambda_{\text{excitação}}=320\text{nm}$  dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente, em relação aos ácidos fúlvicos iniciais\_\_\_\_\_ 82
- Figura 4.14 – Espectros de UV-Vis (230-500nm) dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente\_\_\_\_\_ 83
- Figura 4.15 – Diminuição (%) das absorvidades específicas ( $\text{g}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ ) observadas aos comprimentos de onda de 250nm, de 280nm e de 365nm dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente, em relação aos ácidos fúlvicos iniciais\_\_\_\_\_ 84
- Figura 4.16 – Absorvidades específicas observadas ao comprimento de onda de 280nm ( $\epsilon_{280\text{nm}}$  ( $\text{g}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ )) dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente\_\_\_\_\_ 85
- Figura 4.17 – Razão  $E_2/E_3$  para os ácidos fúlvicos iniciais (■) e para os ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (◆), correspondentes a cada uma das experiências\_\_\_\_\_ 85

Figura 4.18 – Curvas de permeação resultantes da aplicação da Equação (3.5) aos resultados da ultrafiltração sequencial no modo de concentração, nas diferentes membranas, das três réplicas dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global (**AF1<sub>1</sub>**), (**AF1<sub>2</sub>**), (**AF1<sub>3</sub>**) dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à radiação solar das 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> experiências (**AF2**) e da solução final da 1<sup>a</sup> experiência de exposição solar (**SE**)\_\_\_\_\_ 88

Figura 4.19 – Valores dos coeficientes de permeação dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global (**AF1**) (valores máximos e mínimos), dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à radiação solar das 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> experiências (**AF2**) e da solução final da 1<sup>a</sup> experiência de exposição solar (**SE**)\_\_\_\_\_ 91

Figura 4.20 – Valores da percentagem de distribuição por tamanhos moleculares dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global (**AF1**) (valores máximos e mínimos), dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à radiação solar das 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> experiências (**AF2**) e da solução final da 1<sup>a</sup> experiência de exposição solar (**SE**)\_\_\_\_\_ 93



# **1. OBJETIVO**



É hoje amplamente reconhecido que a descarga dos efluentes da indústria de pasta de papel constitui um sério problema ambiental, em particular as descargas dos efluentes provenientes da etapa de branqueamento. Estes, e não obstante se verificar uma redução da sua descarga nas últimas décadas, continuam a ser responsáveis pela maior parte da carga poluente dos efluentes desta indústria, daí o seu estudo ser objecto de vasta investigação. O branqueamento da pasta de papel com produtos químicos contendo cloro leva à formação de elevadas quantidades de compostos orgânicos clorados. A tecnologia ambiental disponível à data ainda não permite a reciclagem dos produtos clorados e o tratamento biológico das águas residuais apenas remove parcialmente estes produtos.

Dado que a produção de pasta de papel pelo processo sulfato (kraft) corresponde ao processo dominante de produção de pasta de papel em vários países, nomeadamente em Portugal, grande parte dos estudos publicados dizem respeito aos efluentes provenientes dessas fábricas, em particular, no que concerne à caracterização da matéria orgânica dissolvida nos efluentes dos processos de branqueamento. Contudo, os efluentes habitualmente descarregados correspondem não só ao efluente dessa etapa, mas sim à mistura dos efluentes provenientes de todas as etapas processuais após sofrerem algum tipo de tratamento antes de serem lançados nas águas superficiais. Em relação a estes efluentes globais poucos estudos têm sido realizados no sentido de caracterizar a matéria orgânica dissolvida nos mesmos.

Assim, a adequada caracterização dos efluentes torna-se um objectivo necessário para a avaliação dos riscos provocados pela descarga desses efluentes nas águas receptoras. De facto, o destino destes efluentes quando lançados nas águas naturais, expostas à luz solar directa e aos processos microbiológicos, continua ainda pouco esclarecido.

As propriedades físico-químicas do material orgânico presente nos efluentes permite classificar este material em duas fracções, a fracção de baixo peso molecular ( $M_r < 1000$ ) e a fracção de elevado peso molecular ( $M_r > 1000$ ). Tem vindo a ser verificado que o material dissolvido de elevado peso molecular não é quimicamente estável sob as condições em que permanece nas águas receptoras. Mantém-se contudo em aberto a questão sobre a forma e a extensão da fragmentação biológica e química deste material, dando origem a compostos de baixo peso molecular que, supostamente, provocam efeitos biológicos nocivos.

Existem diversos estudos realizados sobre a fotodegradação da matéria orgânica dissolvida em águas naturais, no entanto, apenas escassos trabalhos foram realizados sobre as alterações estruturais e de tamanho molecular induzidas pela fotodegradação da matéria orgânica destes efluentes ou em águas por eles contaminadas.

O principal objectivo deste trabalho é contribuir para o conhecimento do impacto desses efluentes, estudando as alterações estruturais e as alterações de tamanho molecular induzidas pela fotodegradação. Para o efeito foram utilizados ácidos fúlvicos extraídos de um efluente global, após tratamento biológico, de uma fábrica de pasta Kraft branqueada, que utiliza a madeira de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) como matéria-prima.

## 2. INTRODUÇÃO



Na presente introdução são abordados aspectos que se consideram relevantes para uma melhor compreensão e enquadramento do trabalho realizado. Inicialmente é efectuada uma descrição da composição química da madeira, matéria-prima utilizada para a produção de pasta de papel, e do processo de fabrico em questão. De seguida, são apresentados as características dos efluentes provenientes de fábricas de papel, os problemas ambientais associados à descarga dos mesmos nas águas superficiais e o papel desempenhado pela radiação solar na degradação da matéria orgânica dissolvida nesses efluentes. Por último, é descrita a técnica de fraccionamento utilizada no presente trabalho.

## 2.1 Composição química da madeira

A madeira obtida a partir das árvores da floresta constitui a principal matéria-prima para a produção de pasta e papel. As árvores pertencem às plantas produtoras de sementes (Spermatophytae), que estão subdivididas em gimnospérmicas (Gymnospermae) e angiospérmicas (Angiospermae). As primeiras, também conhecidas por árvores de madeira macia (coníferas), do inglês *softwood*, são designadas por alguns autores como árvores de madeira de fibra longa; de igual modo, as angiospérmicas, conhecidas como árvores de madeira dura, do inglês *hardwood*, são designadas por árvores de madeira de fibra curta.

A madeira, considerando a sua anatomia e as suas propriedades químicas, é um material complexo e não uniforme. Estas características têm origem na existência de diferentes tipos de células, responsáveis pelas funções de suporte mecânico, transporte de água e metabolismo. Adicionalmente, a composição química dos diferentes

constituintes da madeira, difere de uma zona para outra da árvore (tronco, ramos, copa, raiz e casca) e também com a sua idade.

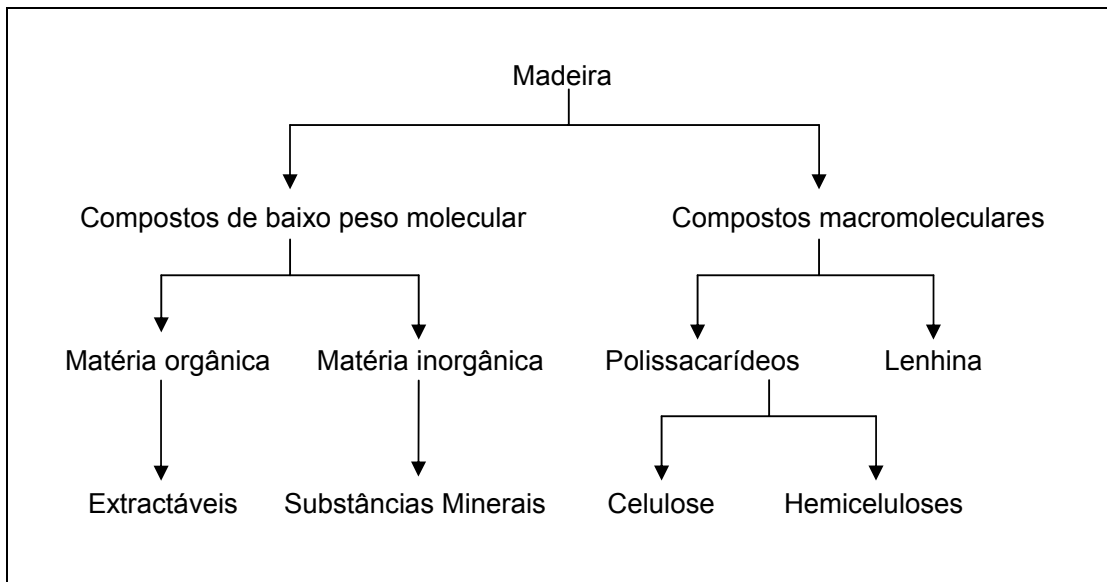


Figura 2.1 - Esquema geral dos compostos químicos constituintes da madeira.

De uma forma geral, podem ser considerados dois tipos de compostos químicos constituintes da madeira (Figura 2.1): os compostos macromoleculares, nomeadamente a celulose, hemiceluloses e lenhina (e que estão sempre presentes em todas as madeiras, embora em diferentes proporções) e os compostos de baixo peso molecular (extractáveis e substâncias minerais), cujos tipo e quantidade estão particularmente relacionados com a espécie de madeira.

### 2.1.1 Compostos macromoleculares

Tanto a proporção como a composição química da lenhina e das hemiceluloses diferem nos dois tipos de madeira. Pelo contrário, a celulose constitui um componente com composição química uniforme nos diferentes tipos de madeira.



### 2.1.1.1 Celulose

A celulose é o principal constituinte da madeira. Cerca de 40 a 45% da matéria seca da maioria das espécies de madeira é constituída por celulose, a qual se localiza predominantemente na parede celular secundária (Figura 2.2) [1,2].

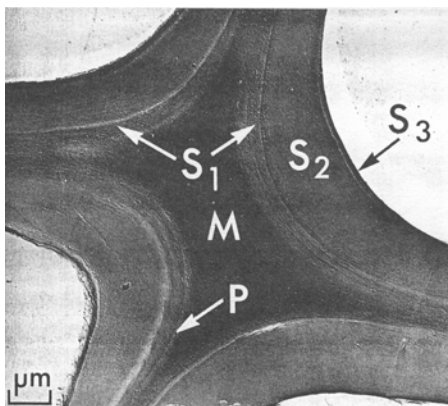


Figura 2.2– Secção transversal de uma célula vegetal onde é possível observar a lamela mediana (M), a parede primária (P) e a camada exterior ( $S_1$ ), a camada mediana ( $S_2$ ) e a lamela interna da parede secundária ( $S_3$ ) [1].

A celulose pode ser definida como um polímero linear formado por unidades  $\beta$ -D-glucopirranose ligadas entre si por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). (Figura 2.3).

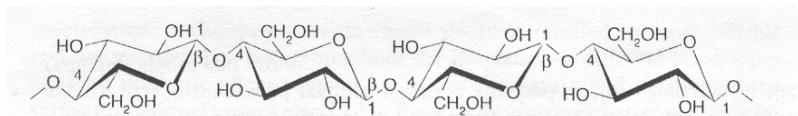


Figura 2.3- Segmento da cadeia de celulose, evidenciando as ligações glicosídicas entre os átomos de carbono 1 e 4 das unidades  $\beta$ -D-glucopirranose, com os grupos hidroxilo e hidroximetilo equatorialmente orientados [2].

A forte tendência para a formação de ligações de hidrogénio intra e intermoleculares provoca a agregação de feixes de moléculas de celulose em microfibrilhas, que formam zonas perfeitamente ordenadas (ou cristalinas), alternadas com zonas menos ordenadas (ou amorfas). As microfibrilhas agregam-se em fibrilhas e, por fim, em fibras de celulose. A firme estrutura criada pelas ligações de hidrogénio resulta nas propriedades típicas da celulose, como a sua insolubilidade na maioria dos solventes.

Apesar da estrutura química da celulose ser conhecida em detalhe, o estado supramolecular e as propriedades poliméricas ainda não foram totalmente esclarecidas (tome-se como exemplo o peso molecular exacto e a dimensão das microfibrilhas).

### **2.1.1.2 Hemiceluloses**

As hemiceluloses foram, inicialmente, consideradas compostos intermediários na biossíntese da celulose. Actualmente, considera-se que pertencem a um grupo de polissacarídeos heterogéneos (ao contrário da celulose que é um polissacarídeo homogéneo) com origem num processo distinto do processo que origina a celulose [1]. Em comum com a celulose, têm a função de material de suporte na parede celular.

As hemiceluloses constituem cerca de 20 a 30% da matéria seca da madeira [1]. As madeiras duras contêm mais hemiceluloses do que as madeiras macias e a composição e estrutura das mesmas diferem nos dois tipos de madeira.

Na parede celular, as hemiceluloses encontram-se intimamente associadas à celulose. Apresentam como principais diferenças o facto de serem compostas por vários tipos de açúcares, serem constituídas por cadeias moleculares mais reduzidas e ramificadas e apresentarem um grau de polimerização bastante inferior (cerca de 200) quando comparado com o da celulose (que corresponde a 10 000).

### **2.1.1.3 Lenhina**

Sob o ponto de vista morfológico, a lenhina pode ser caracterizada como uma substância amorfa que se deposita na parede celular e na lamela mediana (Figura 2.2) após a formação dos polissacarídeos, reforçando a estrutura da madeira, naquela que é a sua principal função.

A percentagem de lenhina existente na madeira varia entre 20 a 33%, diferindo de espécie para espécie e, especialmente, de madeira macia para madeira dura [2]. Na madeira dura existe uma maior quantidade de lenhina do que na madeira macia. Adicionalmente, verificam-se diferenças estruturais entre as lenhinas dos dois tipos de madeira. A estrutura química da lenhina ainda não se encontra completamente esclarecida, mas os principais elementos estruturais e o tipo de ligações já foram identificados (Figura 2.4).

A baixa solubilidade da lenhina na maioria dos solventes constitui um problema na determinação das suas propriedades poliméricas. As soluções de lenhina isolada apresentam, tipicamente, baixa viscosidade, em contraste com as de celulose, que apresentam uma alta viscosidade [2].

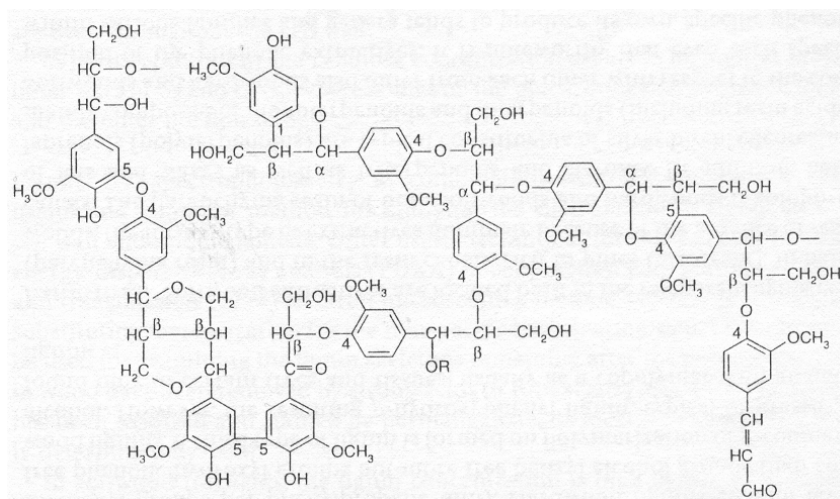


Figura 2.4- Representação simplificada de um segmento de lenhina de madeira macia na qual são evidenciadas as principais ligações entre as unidades de fenilpropano [2].

A molécula da lenhina é uma estrutura bem diferente dos polissacarídeos; consiste num sistema aromático composto por unidades de fenilpropano (Figura 2.5), as quais se encontram principalmente unidas por ligações carbono-oxigénio, mas também por ligações carbono-carbono. Vários tipos de grupos funcionais estão presentes, quer no

anel aromático, quer na cadeia lateral do propano, o que influencia as propriedades e a reactividade da lenhina.

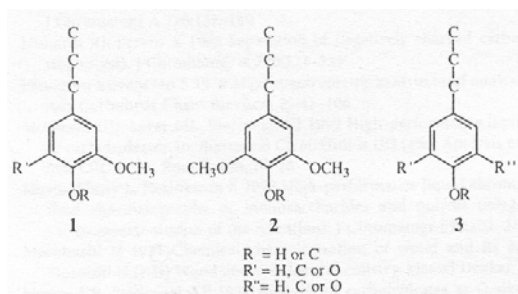


Figura 2.5- Unidades de fenilpropano constituintes da molécula de lenhina [3]

### 2.1.2 Compostos de baixo peso molecular

Os compostos de baixo peso molecular pertencem a diferentes classes de compostos químicos, pelo que se torna difícil estabelecer uma classificação, sendo talvez a mais simples, separar estes compostos em matéria orgânica e matéria inorgânica.

A matéria orgânica, vulgarmente designada por extractáveis, corresponde a uma classe heterogénea de diversos compostos dos quais se destacam os compostos fenólicos, os terpenos, os ácidos alifáticos e os álcoois. Na sua maioria estes compostos são lipofílicos e solúveis em solventes orgânicos [4].

Os diferentes tipos de extractáveis são essenciais para as mais variadas funções vitais da árvore, como por exemplo as gorduras que constituem uma importante fonte de energia, enquanto que os terpenos, resinas e compostos fenólicos protegem a árvore contra microrganismos e insectos.

A quantidade de compostos inorgânicos é normalmente reduzida, nunca excedendo 1% da matéria seca da madeira [2]. Os catiões predominantes, cálcio, potássio e magnésio, ocorrem principalmente como carbonatos, silicatos, fosfatos e oxalatos. O ferro e o manganês ocorrem em quantidades muito inferiores e, entre outros metais de transição, o cobre e o cobalto, estão presentes apenas em concentrações vestigiais.

## 2.2 Processo sulfato (Kraft) de produção de pasta de papel

A pasta é o produto de base para a produção de papel. O objectivo da produção de pasta é o de libertar as fibras de celulose, o que pode ser conseguido química ou mecanicamente ou, ainda, pela combinação destes dois tipos de tratamento [1, 5].

Existem quatro tipos principais de processos de produção de pasta de papel: químico, semi-químico, químico- mecânico e mecânico. Esta ordem traduz o aumento da energia mecânica necessária para separar as fibras e a consequente diminuição da acção química. Quanto maior for a utilização de químicos, menor é o rendimento (termo geral que indica a quantidade de material obtido após um determinado processo quando comparado com a quantidade do respectivo material antes do processo) e o teor em lenhina, já que a acção química provoca a degradação e solubilização dos componentes da madeira, especialmente, da lenhina e das hemiceluloses [5]. Por outro lado, o processo químico produz fibras individuais não cortadas e dá origem a um papel resistente, uma vez que a lenhina, que interfere com as ligações de hidrogénio das fibras, é amplamente removida. A produção química de pasta de papel, à escala mundial, baseia-se nos processos sulfito e sulfato (kraft) [1]. O processo sulfato assumiu um grande destaque e corresponde, não somente ao processo químico dominante, mas também ao processo mais utilizado de produção de pasta de papel [6].

Existem várias razões para que o processo kraft (*kraft* significa resistência em alemão e em sueco) se tenha destacado relativamente ao processo sulfito: apresenta reduzida exigência quanto ao tipo e qualidade de madeira, podendo ser utilizados todos os tipos de madeira, macia ou dura, ou mesmo combinações entre ambos; além disso, é um processo que apresenta grande tolerância a elevadas quantidades de extractáveis e os tempos de cozimento implicados são curtos. Este processo compreende o processamento dos licores utilizados, incluindo a recuperação dos químicos usados na produção da pasta, a geração de calor para o processo e a obtenção de subprodutos. Adicionalmente, origina uma pasta com excelentes propriedades de resistência. Os principais inconvenientes do processo sulfato consistem no odor libertado, no menor rendimento relativamente ao processo sulfito, a cor escura da pasta não branqueada e, por fim, os elevados custos associados à instalação de uma unidade fabril [6, 7].

O processo kraft é um esquema relativamente uniforme, apesar da variedade de equipamentos e das condições de cozimento (Figura 2.6).

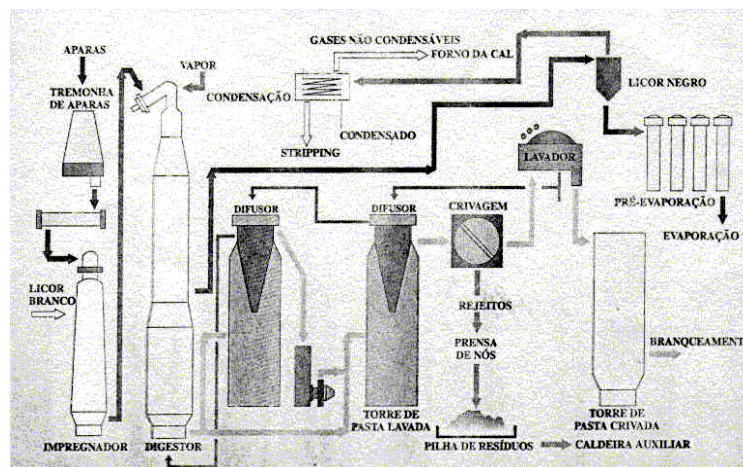


Figura 2.6- Exemplo de um esquema de produção de pasta crua através do processo Kraft.

A madeira, na forma de aparas previamente obtidas através da acção de um destroçador e de um processo de crivagem, é colocada em contacto com uma solução alcalina, designada por licor branco, num digestor. O licor branco é constituído principalmente por hidróxido de sódio (80 a 85%) e por carbonato de sódio (15 a 20%). Estão ainda presentes no licor branco outros compostos como o sulfureto de sódio e, em reduzidas quantidades, sulfato de sódio, tiosulfato de sódio, polissulfuretos e sulfito de sódio.

A carga dos químicos utilizada na produção alcalina da pasta depende de vários factores, como por exemplo da espécie de madeira, das condições de cozimento e da quantidade de lenhina residual que se pretende obter na pasta.

A carga alcalina é o parâmetro mais importante a controlar para a dissolução da lenhina e dos polissacarídeos. No início do cozimento, a maior parte da carga alcalina é consumida na neutralização dos ácidos derivados dos polissacarídeos e dos produtos de degradação da lenhina. Sobretudo na parte final do cozimento, evitam-se grandes cargas

alcalinas, caso contrário, ocorre a dissolução da celulose e das hemiceluloses, resultando numa redução da produção e das propriedades de resistência da pasta.

O processo de cozimento das aparas de madeira dá origem à pasta crua e ao licor negro. O licor negro é uma mistura extremamente complexa que contém a maior parte dos elementos inorgânicos originais do licor branco e as substâncias degradadas e dissolvidas provenientes da madeira [5]. É removido através de uma lavagem contra corrente e encaminhado para a linha de recuperação de químicos. Posteriormente, a pasta crua é submetida a processos de crivagem, lavagem e, finalmente, é compactada e armazenada até à sua utilização em etapas subsequentes.

A composição química e as propriedades mecânicas da pasta obtida por intermédio de um tratamento alcalino dependem do tipo de madeira e das próprias condições da produção da pasta. A composição química da pasta constitui um factor essencial, não só porque influencia o rendimento, como também o comportamento da pasta nas etapas subsequentes e, ainda, porque determina a sua resistência e a sua cor. Assim, para além das propriedades morfológicas das fibras, as reacções dos polissacarídeos em meio alcalino e o grau de remoção de lenhina determinam as características da pasta. A quantidade de lenhina residual, normalmente, expressa-se pelo índice kappa, do inglês *kappa number*. O teste kappa corresponde a um método indirecto para determinar a lenhina através do consumo do ião permanganato pela mesma [5].

A pasta não branqueada obtida pelo processo alcalino apresenta uma cor escura provocada pelos grupos cromóforos, grupos com ligações covalentes insaturadas, da lenhina residual. O branqueamento da pasta química pode ser considerado uma extensão da deslenhificação, iniciada no processo do cozimento [7]. O seu principal objectivo consiste no aumento da brancura da pasta [5, 6, 7]. Para obter uma brancura comercialmente viável, uma pasta kraft exige várias etapas da sequência de branqueamento, cerca de cinco ou seis.

A sequência típica de branqueamento envolve três fases. A primeira consiste na adição de um oxidante contendo cloro à pasta, solubilizando a maior parte da lenhina residual através de reacções de adição e substituição; a pasta, antes de passar para a etapa seguinte, é submetida a uma lavagem com água, em que cerca de um terço dos produtos clorados derivados da lenhina são removidos. A segunda etapa, designada por extracção alcalina, consiste na adição de hidróxido de sódio à pasta com o objectivo de remover os produtos de reacção residuais que não foram totalmente solubilizados na

etapa anterior, e que, em meio alcalino, se dissolvem rapidamente. O tratamento alcalino da pasta também permite remover materiais resinosos, pentoses e outros carboidratos de baixo peso molecular. O filtrado da primeira fase desta extracção apresenta grandes quantidades de substâncias orgânicas dissolvidas cloradas, daí a descarga de um sistema de branqueamento kraft ser considerada muito tóxica. No final da sequência de branqueamento surge pelo menos uma etapa oxidativa, a fim de se obter uma pasta branca comercialmente viável. Os produtos químicos mais utilizados nas etapas oxidativas são o hipoclorito de sódio e o dióxido de cloro.

No passado, as sequências de branqueamento da pasta kraft utilizavam apenas compostos com cloro. A utilização destes compostos provoca um grande número de problemas ambientais, pelo que se desenvolveram esforços no sentido de os substituir ou de pelo menos reduzir a quantidade utilizada [6]. Alternativamente, numa fase posterior, o oxigénio foi incluído na sequência de branqueamento, assim como o peróxido de hidrogénio. Como a oxidação é a reacção essencial à remoção da lenhina, parece razoável considerar o oxigénio um agente oxidante adequado para o branqueamento. Contudo, a utilização de oxigénio resulta numa perda das propriedades de resistência, uma vez que, para uma pasta atingir uma brancura elevada, o branqueamento exclusivamente com oxigénio provoca danificação dos polissacarídeos. Assim, é prática comum, a nível industrial, remover cerca de metade da lenhina residual da pasta não branqueada utilizando o oxigénio, e a restante utilizando a sequência convencional de branqueamento. A tendência futura parece ser a implementação de sequências utilizando o ozono como agente branqueador de pastas químicas, o que permite eliminar por completo a utilização de compostos com cloro [5, 8].

### **2.3 Efluentes provenientes de fábricas de pasta de papel e problemas ambientais associados à sua descarga**

Nesta secção são apresentadas as principais características dos efluentes provenientes de fábricas de pasta de papel, atribuindo-se especial relevo ao conteúdo em compostos orgânicos clorados dos mesmos. Dado o impacte ambiental que poderá advir da descarga destes efluentes em meios aquáticos, os problemas ambientais associados à sua descarga são igualmente abordados.



### 2.3.1 Características dos efluentes provenientes de fábricas de papel

A adequada caracterização dos efluentes de fábricas de pasta de papel constitui um importante objectivo e uma necessidade para a avaliação dos riscos provocados pela descarga desses efluentes nas águas receptoras. A utilização de parâmetros sumários é uma prática comum em gestão ambiental quando a complexidade do efluente impossibilita a identificação e a quantificação dos compostos químicos individualizados.

Os parâmetros tradicionalmente seleccionados para efectuar a caracterização dos efluentes são a carência química de oxigénio (CQO), a carência bioquímica de oxigénio (CBO), os sólidos suspensos totais (SST), a cor e os testes de toxicidade. No entanto, tem sido dedicada uma especial atenção à emissão de compostos persistentes e bioacumuláveis, isto é, compostos que provocam efeitos tóxicos a longo prazo, mesmo quando presentes em quantidades muito reduzidas. Daí o grande destaque atribuído aos compostos orgânicos clorados dos efluentes provenientes do branqueamento da pasta com reagentes que contêm cloro.

A formação dos compostos organoclorados é principalmente atribuída às reacções entre a lenhina e os compostos contendo cloro. Estas reacções dão origem a produtos organoclorados que são depois removidos da pasta para a fase líquida, durante o processo [9].

No sentido de avaliar o conteúdo total em compostos orgânicos clorados nos efluentes foram desenvolvidos dois parâmetros, o AOX (compostos orgânicos halogenados adsorvíveis, do inglês *adsorbable organic halogens*) e o EOX (compostos orgânicos halogenados extraíveis, do inglês *extractable organic halogens*). Na análise de compostos clorados surge ainda um outro parâmetro POX (compostos orgânicos halogenados purgáveis, do inglês *purgeable organic halogens*), o qual não é muito utilizado [10].

O método AOX determina a quantidade de cloro na amostra que é retida no carbono activado e é considerado uma determinação da quantidade total de cloro organicamente ligado [4]. O método EOX envolve a extracção da amostra aquosa com um solvente não polar. O teste EOX é considerado um melhor indicador do potencial de bioacumulação do que o AOX e, tipicamente, fornece a concentração de uma pequena percentagem de AOX.

Do ponto de vista ambiental, torna-se interessante conhecer a natureza e a concentração do maior número possível de compostos existentes. Considerando o cloro organicamente ligado, a distribuição de massas moleculares e as propriedades de solubilidade do material orgânico revelam-se importantes.

A classificação físico-química do material orgânico clorado presente nos efluentes provenientes de uma sequência convencional de produção e branqueamento da pasta kraft é apresentada na Figura 2.7. [11, 12].

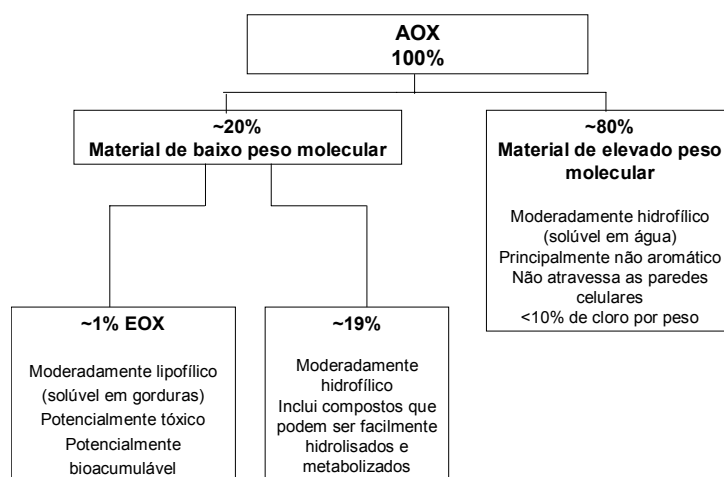


Figura 2.7- Classificação do AOX do efluente proveniente de uma sequência convencional de produção de pasta e branqueamento kraft.

### 2.3.1.1 Fracção de baixo peso molecular

Estima-se que cerca de 20% do cloro organicamente ligado encontrado no efluente do branqueamento corresponde a material de baixo peso molecular ( $M_r < 1000$ ). Nos últimos anos, consideráveis esforços de pesquisa foram direccionados para a caracterização individualizada desta fracção, já que é expectável que seja esta a fracção que contém os compostos potencialmente tóxicos para os organismos aquáticos, devido à sua capacidade de atravessar as membranas celulares e à sua propensão para a bioacumulação nos tecidos dos organismos superiores.

Os compostos que constituem a fracção de baixo peso molecular, classificados como fenólicos, acídicos e neutros, são, no mínimo, parcialmente responsáveis pela carência de oxigénio, pela cor do efluente, pela sua toxicidade, pela sua mutagenicidade e pela sua carcinogenicidade.

Ainda assim, alguns dos principais componentes da fracção de baixo peso molecular correspondem a substâncias moderadamente solúveis em água que são facilmente fragmentados antes ou durante um tratamento biológico e, por isso, com reduzido significado a nível ambiental.

A fracção de AOX extraível com um solvente orgânico não polar (EOX) representa cerca de 1 a 3% do cloro total organicamente ligado. Esta fracção inclui compostos orgânicos neutros, moderadamente lipofílicos, de baixo peso molecular, adquirindo por isso um maior significado ambiental do que o restante 99% do material AOX. A componente desta fracção mais preocupante, sob o ponto de vista ambiental, consiste no material aromático policlorado que apresenta um elevado nível de substituição com cloro, tipicamente três ou mais átomos de cloro por anel aromático.

Os clorofenóis têm sido estudados em detalhe, provavelmente devido ao facto de originalmente terem sido associados à toxicidade do efluente produzido durante o branqueamento com cloro elementar. Os clorofenóis com baixa substituição não são hidrofóbicos. Apenas as espécies com alta substituição são hidrofóbicos e por isso bioacumuláveis [4].

### **2.3.1.2 Fracção de elevado peso molecular**

Cerca de 80% do cloro organicamente ligado corresponde a material clorado de elevado peso molecular (massa molecular relativa,  $M_r > 1000$ ) derivado da lenhina, normalmente designado por clorolenhinas.

Os compostos incluídos na fracção de elevado peso molecular, apesar de contribuírem pouco para a CBO e para a toxicidade aguda, devido à sua incapacidade de atravessar as membranas celulares, são os principais responsáveis pela cor do efluente, pela CQO e pela toxicidade crónica. A maior parte dos compostos organoclorados provenientes do processo de branqueamento da pasta corresponde a este tipo de material heterogéneo, que por apresentar elevado peso molecular é considerado biologicamente inerte. O comportamento ecológico deste material, como a sedimentação,

a biodegradação e a bioacumulação depende, simultaneamente, do seu tamanho molecular e da sua hidrofobicidade [13]. Este material inclui, para além de fragmentos da lenhina residual fortemente oxidados, oligo e polissacarídeos derivados, principalmente, das hemiceluloses [13].

As técnicas analíticas disponíveis não têm permitido a identificação de compostos individuais constituintes da fracção de elevado peso molecular, permitindo apenas a caracterização parcial da mistura ou de fracções mais homogéneas da mesma. Uma forma encontrada para contornar esta limitação é proceder à caracterização deste material utilizando parâmetros sumários tais como a distribuição de pesos moleculares, a composição elementar e o conteúdo em grupos funcionais.

A caracterização da fracção de elevado peso molecular da matéria orgânica dos efluentes de fábricas de papel é normalmente precedida pelo isolamento da matéria orgânica dissolvida do efluente. Os procedimentos mais vulgarmente utilizados para o efeito consistem na ultrafiltração [14] e na extracção por adsorção em resinas XAD semelhantes aos aplicados na extracção de substâncias húmicas naturais [14, 15]. Entende-se por substâncias húmicas naturais os compostos orgânicos macromoleculares provenientes da degradação da biomassa e que constituem a maior fracção do carbono orgânico dissolvido nos cursos de água [16]. As substâncias húmicas são constituídas por três fracções: ácidos húmicos (fracção insolúvel em água em condições ácidas,  $\text{pH} < 2$ , ou  $\text{pH} < 1$  para matéria orgânica proveniente do solo), ácidos fúlvicos (fracção solúvel em água para todos os valores de  $\text{pH}$ ) e humina (fracção insolúvel em água para todos os valores de  $\text{pH}$ ) [17].

As características químicas do material de elevado peso molecular assemelham-se às características das substâncias húmicas naturais [14, 18, 19]. O material orgânico de elevado peso molecular dos efluentes de fábricas de celulose, tal como as substâncias húmicas, é rico em grupos carboxilo e, em condições neutras ou alcalinas, estes compostos podem-se comportar como polieletrólitos aniónicos, atraindo e transportando quantidades significativas de iões metálicos. Tem também sido referido que este material, assim como as substâncias húmicas, pode actuar como transportador macromolecular de compostos orgânicos fortemente lipofílicos mais pequenos, afectando o seu transporte no ambiente aquático e, ao mesmo tempo, reduzindo a sua biodisponibilidade [14, 19].

Estudos realizados no sentido de avaliar a influência dos efluentes provenientes das fábricas de pasta de papel na composição das substâncias húmicas dissolvidas em

águas naturais revelaram que os fragmentos resultantes da degradação da lenhina podem influenciar a composição da fracção húmica da matéria orgânica dissolvida das mesmas [16]. A análise destas substâncias isoladamente em amostras de águas superficiais é assim dificultada devido à semelhança das características químicas, apesar das diferentes origens. A maior diferença encontra-se no teor de cloro que é maior nas clorolenhinas do que nas substâncias húmicas de origem natural [19].

### **2.3.2 Problemas ambientais associados à descarga dos efluentes**

O impacto provocado pelo efluente proveniente da produção de pasta e de papel nas águas receptoras depende de vários factores, nomeadamente da espécie de madeira utilizada, do grau de controlo da descarga e da recuperação de licores do processo, do tipo de branqueamento e do tratamento do efluente antes de ser descarregado. Os potenciais impactes ambientais podem diferir significativamente no tempo e de um ambiente receptor para outro. Torna-se por isso importante ter em atenção que os efluentes provenientes de diferentes fábricas de pasta de papel não são necessariamente comparáveis [4].

No entanto, as questões ambientais levantadas, de uma forma geral, consistem principalmente na toxicidade dos compostos presentes e na cor intensa exibida pelo efluente.

Tal como já foi referido anteriormente, foram identificados algumas centenas de compostos orgânicos clorados nos efluentes de branqueamento com o objectivo de determinar a natureza e a concentração de compostos individuais. Os compostos que constituem a fracção de baixo peso molecular são, no mínimo, parcialmente responsáveis pela carência de oxigénio (CBO e CQO), pela cor do efluente, pela toxicidade, pela mutagenicidade e pela carcinogenicidade.

Os compostos incluídos na fracção de elevado peso molecular, apesar de contribuírem pouco para a CBO e para a toxicidade aguda, devido à sua incapacidade de atravessarem as membranas celulares, são os principais responsáveis pela cor do efluente, pela CQO e pela toxicidade crónica. Além disso, tem vindo a ser demonstrado que o material de elevado peso molecular não é quimicamente estável sob as condições

que permanecem nas águas receptoras, podendo dar origem a compostos de baixo peso molecular [11, 20].

A cor é uma medida indirecta da quantidade de clorolenhinas presente no efluente. Yousefian and Reeve [21] consideram que a cor poderá vir a tornar-se o parâmetro mais importante no futuro. Quanto maior for a quantidade de matéria orgânica presente, mais escuro é o efluente e maior é a tendência para produzir espuma [8]. O efluente de branqueamento da pasta derivada de madeira macia apresenta uma cor mais intensa e um valor da CQO mais elevado relativamente ao efluente de branqueamento da pasta derivada de madeira dura [21]. Para além do impacte visual, a descarga de efluentes com cor intensa nas águas superficiais provoca a redução da transparência destas águas, o que pode ter como consequência a alteração dos processos biológicos que ocorrem no meio aquático.

Outro problema que deve ser considerado é a influência dos efluentes na biodisponibilidade de certos compostos xenobióticos. As clorolenhinas apresentam uma grande capacidade de adsorver reversivelmente compostos fortemente lipofílicos, como o TCB (3,3',4,4'-tetraclorobenzeno) e o TCDD (2,3,7,8-tetraclorodibenzenodioxina), reduzindo a biodisponibilidade destes compostos enquanto a associação perdurar. Se a ruptura desta ligação ocorrer por qualquer razão, como por exemplo a redução da concentração da matéria orgânica dissolvida na coluna de água, podem-se desencadear fenómenos com importantes consequências ecotoxicológicas nos ecossistemas aquáticos [19].

### **2.4 Papel da radiação solar na degradação da matéria orgânica dissolvida nos efluentes**

O destino da matéria orgânica dissolvida nos efluentes provenientes de fábricas de produção de pasta de papel kraft no meio receptor encontra-se, ainda, pouco esclarecido. Apesar das alterações introduzidas nos processos de produção e branqueamento da pasta de papel no sentido de diminuir a utilização de compostos com cloro e da implementação de tratamento biológico dos efluentes, que tipicamente remove a toxicidade aguda e os clorofenóis monoméricos residuais, apenas 30-50% do AOX total é

removido [22]. Mesmo as sequências de branqueamento em que não se utiliza o cloro elementar, as ECF (*elemental chlorine free*), seguidas de tratamento biológico, libertam quantidades significativas de AOX, provavelmente relacionadas com derivados não aromáticos da lenhina clorada. A maior parte do AOX que permanece nos efluentes após o tratamento biológico corresponde a material de elevado peso molecular [22].

O destino deste AOX quando lançado nas águas naturais receptoras, expostas à luz solar directa e aos processos microbiológicos, continua pouco esclarecido. Existem diversos estudos realizados sobre a fotodegradação da matéria orgânica dissolvida em águas de origem natural [23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34]. Na maioria destes estudos, a fotoreactividade da matéria orgânica dissolvida tem sido frequentemente evidenciada pelas alterações observadas no espectro da absorção electrónica, pelas alterações das concentrações de carbono orgânico e inorgânico dissolvidos, e, com menos frequência, pelas alterações no espectro e na intensidade da fluorescência. Destes estudos realizados com matéria orgânica natural, apenas alguns se debruçaram sobre as alterações estruturais das substâncias húmicas isoladas [26, 32, 34, 35]. Em relação ao papel da radiação solar na degradação da matéria orgânica dissolvida nos efluentes provenientes de fábricas de produção de pasta de papel kraft ou em águas por eles contaminada, nos últimos anos, poucos parecem ter sido os trabalhos realizados [22, 36, 37]. O presente trabalho pretende distinguir-se dos restantes pelo facto de estudar as alterações estruturais e de tamanho molecular induzidas pela fotodegradação dos ácidos fúlvicos isolados dos efluentes. Foi encontrado apenas um estudo com o mesmo tipo de abordagem, mas referente a substâncias húmicas naturais isoladas do solo [38].

As reacções fotoquímicas que ocorrem nas águas superficiais são induzidas pela radiação solar [33]. O ritmo a que essas reacções acontecem é dependente da irradiância solar (quantidade de energia por unidade de tempo, por unidade de área irradiada). A interacção da luz solar com os compostos presentes nas águas naturais dá origem a um perfil da composição espectral e da irradiância da luz solar dependente da profundidade, que por sua vez provoca alterações na composição química, nas reacções e na especificação de substâncias ao longo da coluna de água [39, 40]. A zona fotoquímica para uma dada reacção nas águas superficiais ou marinhas pode ser definida como a profundidade máxima para um determinado nível de energia correspondente a 0,1% da luz incidente para um determinado intervalo de comprimentos de onda. Para coeficientes de absorção de  $0,1\text{--}0,5\text{m}^{-1}$ , que são os valores típicos para as águas superficiais a

400nm, a zona fotoquímica corresponde à profundidade compreendida entre 6 a 30 metros [39].

A maior parte das reacções fotoquímicas que ocorrem nas águas superficiais resultam da absorção da luz pela matéria orgânica dissolvida [33, 41, 42]. Estas substâncias absorvem radiação solar na gama entre 300-500nm, que é considerada a gama responsável pela maior parte das fotoreacções induzidas pela luz solar [24, 33, 42, 43]. A gama entre 300-400nm, em particular, corresponde a energias suficientemente elevadas para quebrar muitas ligações químicas: 300nm corresponde a uma energia de  $\approx 400\text{kJ/mol}$  e 400nm é equivalente a  $\approx 300\text{kJ/mol}$  [39].

A absorção de um fotão constitui o pré-requisito para a ocorrência de uma reacção fotoquímica. A nível intra-molecular, os cromóforos são os responsáveis pela absorção dessa radiação. A presença de grupos, como por exemplo OH,  $\text{NH}_2$  ou S com pares de electrões livres, geralmente aumenta a absorvidade dos compostos e o comprimento de onda a que ocorre a absorção.

As reacções fotoquímicas podem ser classificadas em reacções directas ou indirectas [33, 42, 44]. As reacções fotoquímicas directas envolvem os cromóforos, que sofrem uma alteração química (como por exemplo fragmentação, rearranjo intramolecular, isomerização, perda de um átomo de hidrogénio ou dimerização) como consequência directa da absorção de fotões. Na Figura 2.8 encontra-se um exemplo de uma reacção fotoquímica directa [42].

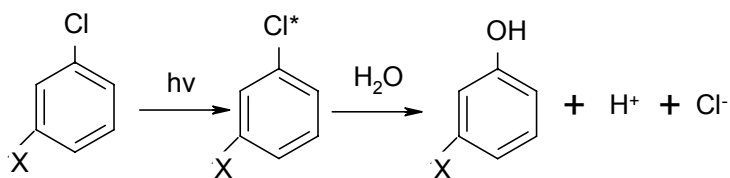


Figura 2.8- Exemplo da fotólise directa na conversão de uma substância orgânica clorada numa substância fenólica. O símbolo “\*” indica um estado electronicamente excitado.

Nas reacções fotoquímicas indirectas, a reacção é iniciada pela absorção de luz por um outro cromóforo, que não da substância de interesse. Se o cromóforo se regenerar,



como acontece nos processos de transferência de energia, a função desempenhada por esse cromóforo é fotocatalítica; se o cromóforo se alterar irreversivelmente, sofre ele próprio uma fotólise directa, que, em simultâneo, provoca a fotólise indirecta de outras substâncias presentes. Os processos indirectos são comuns nas águas naturais e desempenham um papel particularmente importante porque podem alterar moléculas resistentes à fotólise directa, como por exemplo espécies transparentes [40]. As reacções fotoquímicas indirectas envolvem transferência de energia electrónica (reacções também designadas por reacções fotosensibilizadas, do inglês *photosensitized*), transferência de electrões e formação de radicais livres.

Os processos fotoquímicos envolvendo as substâncias húmicas foram estudados por diversos autores [23, 25, 41, 45]. A absorção de luz solar pelas substâncias húmicas leva à excitação das moléculas. Os estados electronicamente excitados apresentam tempos de vida muito curtos e participam, assim como os compostos intermediários reactivos, numa variedade de reacções com substratos orgânicos e inorgânicos presentes nas águas naturais. Na Figura 2.9 encontra-se um esquema representativo deste processo [44].

A maioria das moléculas no seu estado fundamental apresenta um número par de electrões. Os *spins* dos electrões no estado fundamental encontram-se normalmente emparelhados, o que constitui o estado singleto (a molécula de O<sub>2</sub> representa uma excepção, uma vez que o seu estado fundamental caracteriza-se por dois electrões desemparelhados, isto é, encontra-se no estado tripleto). A molécula quando absorve a luz passa ao seu primeiro estado excitado singleto, <sup>1</sup>S\*. Os estados excitados singleto apresentam um tempo de vida muito curto, cerca de um nanossegundo no caso das substâncias húmicas [44]. A molécula regressa ao estado fundamental quer através da emissão de luz (fluorescência) (processo B da Figura 2.9), quer através de decaimento não radiactivo acompanhado por perda de calor (processo A da Figura 2.9). O estado singleto também pode, em parte, decair para o estado tripleto (processo D da Figura 2.9), que apresenta um tempo de vida mais longo.

Tal como os estados singleto, os estados tripleto podem decair por vários processos, sendo o regresso ao estado fundamental (processo E da Figura 2.9) um processo relativamente lento.

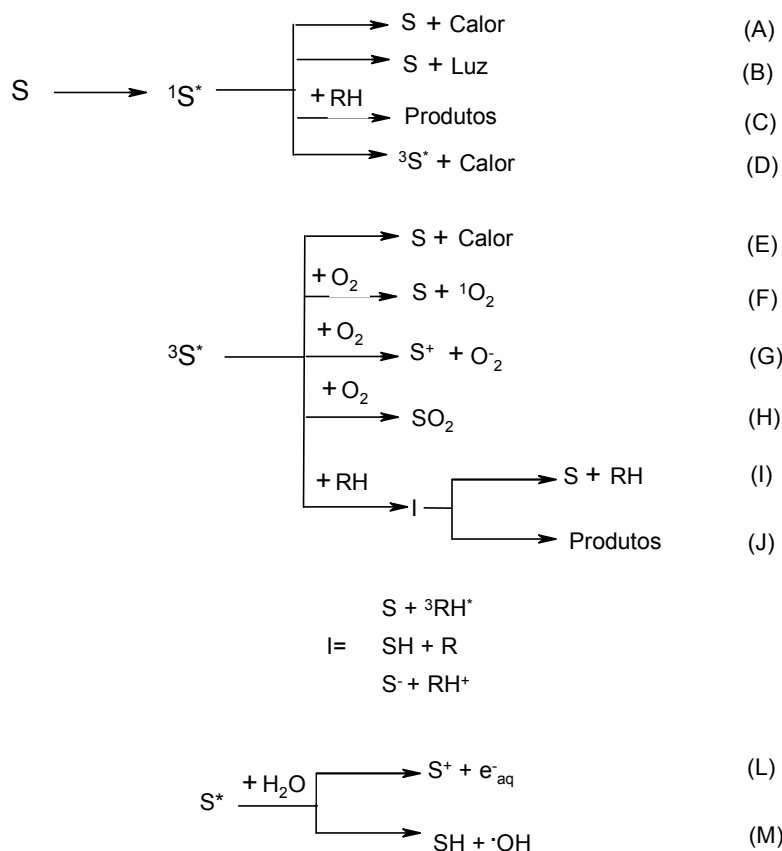


Figura 2.9- Esquema das reacções resultantes da absorção da luz solar pelas substâncias orgânicas. O símbolo “S” representa genericamente a componente reactiva das substâncias húmicas; o símbolo “RH” representa os vários substratos que participam nas reacções químicas e o símbolo “\*” indica que a molécula se encontra num estado electronicamente excitado.

Ambos os estados excitados podem reagir com outras substâncias por processos bimoleculares, embora a eficiência destes processos em águas superficiais envolvendo estados singleto seja relativamente baixa, por um lado, porque a concentração das substâncias químicas é relativamente baixa e, por outro, porque o tempo de vida destes estados é muito reduzido [42, 44]. No entanto, os estados singleto podem sofrer decomposição unimolecular originando intermediários reactivos (processo L da Figura 2.9) que podem participar em reacções secundárias. Os processos bimoleculares incluem

a transferência de energia para o oxigénio ou a reacção com este (processos F-H da Figura 2.9) e as reacções com um substrato e subsequentes reacções secundárias dando origem a produtos ou revertendo aos materiais iniciais (processo J e I da Figura 2.9, respectivamente). Há também evidências de que as substâncias húmicas reagem na água através de um mecanismo pouco esclarecido para formar radicais hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) (processo M da Figura 2.9).

O esquema representado na Figura 2.9, assim como trabalhos publicados [25, 41, 45], colocam em evidência o papel importante desempenhado pelo oxigénio e pelas espécies reactivas de oxigénio nos processos fotoquímicos envolvendo a matéria orgânica de águas naturais. No que diz respeito às reacções indirectas que envolvem transferência de energia, o oxigénio destaca-se por ser um excelente *quencher*, uma vez que se encontra na zona fotoquímica das águas em concentrações consideravelmente superiores à dos outros potenciais *quenchers* [44]. O processo *quenching* envolve a transferência de energia da molécula que absorveu a luz para o oxigénio fazendo com que a molécula excitada volte ao estado fundamental e com que o oxigénio passe ao seu estado singleto,  $^1\text{O}_2$ . O oxigénio singleto,  $^1\text{O}_2$ , é um oxidante mais potente do que o oxigénio molecular [42, 44] e pode reagir com as substâncias húmicas provocando a sua oxidação. A evidência experimental da formação do oxigénio singleto e da sua importância nas reacções fotoquímicas foi obtida através de estudos com águas naturais em que utilizaram *scavengers* de  $^1\text{O}_2$  (isto é, substâncias que consomem o  $^1\text{O}_2$  em solução), como por exemplo, 2-5-dimetilfurano (DMF) e o álcool furfurilo. Nestes estudos foi observado que a presença destas substâncias que reagem com o  $^1\text{O}_2$  provocava uma diminuição da fotodegradação da matéria orgânica dissolvida. Scully *et al* [45] estudaram a fotodegradação da matéria orgânica dissolvida em águas naturais, submetendo essa matéria orgânica à radiação emitida por um simulador de luz solar. Apesar do simulador solar utilizado não emitir radiação a comprimentos de onda inferiores a 300nm, os autores observaram um decréscimo significativo da absorvância nessa gama. Verificaram que o fotobranqueamento da matéria orgânica dissolvida diminuía significativamente quando o álcool furfurilo estava presente, sendo essa diminuição acentuada a baixos comprimentos de onda. Assim, a perda de absorvância da matéria orgânica dissolvida a esses comprimentos de onda pode não estar relacionada com as reacções fotoquímicas directas, mas sim com as reacções fotoquímicas indirectas causadas pelas espécies reactivas de oxigénio que são produzidas por reacções com cromóforos a comprimentos de onda maiores, mas que posteriormente interagem com cromóforos da matéria orgânica dissolvida que absorvem a comprimentos de onda inferiores a 300nm. Já outros

autores [25, 41] tinham igualmente observado a ocorrência de fotobranqueamento a comprimentos de onda onde não ocorre absorção da radiação solar, sendo essa perda de absorvância atribuída à actividade das espécies reactivas de oxigénio. Esta conclusão sai reforçada com o trabalho de Scully *et al* [45], uma vez que ficou demonstrado que o fotobranqueamento a comprimentos de onda mais baixos não ocorre na presença do álcool furfurilo. Adicionalmente à diminuição do fotobranqueamento, a presença do mesmo composto provoca uma diminuição da produção de carbono inorgânico dissolvido. Estes resultados sugerem que as espécies reactivas de oxigénio não só transformam a matéria orgânica dissolvida cromofórica em compostos orgânicos mais transparentes, como também são responsáveis pela oxidação completa de parte da matéria orgânica dissolvida presente na coluna de água.

A importância do oxigénio não se limita apenas à sua participação nos processos que envolvem transferência de energia, mas também nos processos que envolvem a transferência electrónica. O oxigénio pode receber electrões do estado tripleto da molécula excitada formando o ião superóxido ( $O_2^-$ ) (processo G da Figura 2.9). A formação do ião superóxido pode ocorrer, também, através da fotoejectção electrónica de um estado excitado (processo L da Figura 2.9) seguida pela redução do oxigénio pelos electrões hidratados resultantes [44]. A sua principal função é a dismutação para formar peróxido de hidrogénio e oxigénio, podendo também participar em reacções com metais e com outros compostos químicos orgânicos que estão presentes nos ambientes aquáticos [44]. O peróxido de hidrogénio é um oxidante mais estável do que os radicais livres. Pode sofrer fotólise e dar origem a radicais hidroxilo [42, 46]. O radical hidroxilo reage principalmente com a matéria orgânica, sendo em meio aquoso extremamente não selectivo [42].

Paralelamente ao papel desempenhado na fotoprodução de espécies reactivas de oxigénio, a matéria orgânica dissolvida é um importante *scavenger* dos mesmos em águas naturais, sendo o principal *scavenger* dos radicais hidroxilo [44]. Estas reacções resultam numa alteração das substâncias húmicas. Apesar dos mecanismos gerais da fotoprodução de espécies reactivas de oxigénio já se encontrar relativamente bem conhecido, pouco é sabido em relação ao papel desempenhado pelas mesmas na formação de produtos biodisponíveis e na formação de carbono inorgânico dissolvido. Diversos estudos revelaram que as reacções fotoquímicas promovem a diminuição da aromaticidade das substâncias húmicas [33, 34, 41] e o aumento de estruturas alifáticas, de grupos carbonilo e de grupos carboxilo [30, 33]. A perda de aromaticidade de ácidos

húmicos e ácidos fúlvicos de origem natural também foi verificada com irradiação UV artificial [32]. Quando a luz solar é absorvida pela matéria orgânica dissolvida em águas naturais, a média do peso molecular diminui, provavelmente devido à matéria orgânica de elevado peso molecular ser degradada em matéria de baixo peso molecular [23, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 38, 40, 41, 45], e ocorre a formação de uma variedade de fotoprodutos que estimulam o crescimento e a actividade de microrganismos nos ambientes aquáticos [30, 31, 33, 37, 47, 48].

Os fotoprodutos com importância biológica agrupam-se em quatro categorias: compostos orgânicos de baixo peso molecular (compostos com grupos carbonilo com peso molecular <200), compostos orgânicos de carbono gasosos, outros compostos orgânicos não identificáveis e compostos ricos em azoto e fósforo (incluindo  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ ) [23, 30, 31]. Exemplos de compostos orgânicos de baixo peso molecular encontram-se representados na Tabela 2.1 [30, 33]. Estas substâncias são compostos com grupos carbonilo como ácidos gordos e cetoácidos, a maioria com três ou menos átomos de carbono e com peso molecular <100. Outros compostos, como por exemplo, succinato, ácido butanóico, foram referidos como fotoprodutos de matéria orgânica dissolvida submetida a luz artificial com emissão na zona UVC, mas não à radiação solar natural ou simulada [30].

Tabela 2.1- Compostos biodisponíveis com origem na matéria orgânica dissolvida após sofrerem processo fotoquímico [30].

Compostos	Peso Molecular	Estrutura
<b>Compostos de baixo peso molecular</b>		
Acetaldeído	44	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}=\text{O} \end{array}$
Acetato	59	$\begin{array}{c} \text{O}^- \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}=\text{O} \end{array}$
Acetona	58	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \end{array}$
Citrato	189	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{O}^- - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{O}^- \\   \quad \quad \quad    \\ \text{O}^- \quad \quad \quad \text{O} \end{array}$

Tabela 2.1 (continuação)- Compostos biodisponíveis com origem na matéria orgânica dissolvida após sofrerem processo fotoquímico [30].

Compostos	Peso Molecular	Estrutura
<b>Compostos de baixo peso molecular</b>		
Formaldeído	30	$\text{H}_2\text{C}=\text{O}$
Formato	45	$\begin{array}{c} \text{O}^- \\   \\ \text{HC}=\text{O} \end{array}$
Glioxal	58	$\begin{array}{cc} \text{O} & \text{O} \\    &    \\ \text{H C} & - \text{C H} \end{array}$
Glioxalato	73	$\begin{array}{cc} \text{O} & \text{O} \\    &    \\ \text{HC} & - \text{C} - \text{O}^- \end{array}$
Levulinato	115	$\begin{array}{ccccccc} & \text{O} & & & \text{O} & & \\ &    & & &    & & \\ \text{H}_3\text{C} & - \text{C} & - \text{CH}_2 & - \text{CH}_2 & - \text{C} & - \text{O}^- \end{array}$
Malonato	102	$\begin{array}{ccccccc} & \text{O} & & & \text{O} & & \\ &    & & &    & & \\ \cdot\text{O} & - \text{C} & - \text{CH}_2 & - \text{C} & - \text{O}^- \end{array}$
Metilglioxal	72	$\begin{array}{cc} \text{O} & \text{O} \\    &    \\ \text{HC} & - \text{C} - \text{CH}_3 \end{array}$
Oxalato	88	$\begin{array}{cc} \text{O} & \text{O} \\    &    \\ \cdot\text{O} & - \text{C} - \text{C} - \text{O}^- \end{array}$
Propanal	59	$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{H}_3\text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH} \end{array}$
Piruvato	87	$\begin{array}{cc} \text{O} & \text{O} \\    &    \\ \text{H}_3\text{C} & - \text{C} - \text{C} - \text{O}^- \end{array}$
<b>Compostos de carbono inorgânico gasosos</b>		
Monóxido de carbono	28	CO
<b>Nutrientes</b>		
Amónio	17	$\text{NH}_4^+$
Fosfato	95	$\text{PO}_4^{3-}$

Os compostos de carbono inorgânico gasosos formados via fotoquímica a partir da matéria orgânica dissolvida, como o monóxido de carbono (CO), um dos fotoprodutos mais abundantes, o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e outras formas de carbono inorgânico dissolvido, desempenham um papel importante como fonte de energia microbiana.

Paralelamente à formação de produtos de baixo peso molecular identificáveis, a exposição solar também dá origem à formação de outras substâncias orgânicas que apesar de não identificadas são igualmente susceptíveis ao ataque microbiano e em alguns casos representam uma grande proporção da totalidade dos fotoprodutos biodisponíveis.

A última categoria dos fotoprodutos biodisponíveis consiste nos compostos lábeis ricos em azoto e fósforo. Os aminoácidos livres reagem rapidamente com as substâncias húmicas, tornando-se azoto não disponível. Quando exposta à radiação UV, a fracção azotada das substâncias húmicas é rapidamente convertida em aminoácidos e ião amónio através de uma hidrólise ácida fraca. O fosfato foi também identificado como um fotoproducto da matéria orgânica dissolvida, resultando da redução, provocada pela radiação UV, dos complexos de ferro que ligam as substâncias húmicas ao fosfato. No entanto, esta reacção é reversível e no escuro ocorre a reoxidação do ferro e o fosfato volta a ligar-se às substâncias húmicas. Este processo influencia a biodisponibilidade do fosfato e consequentemente pode ter implicações na actividade microbiana dos ambientes aquáticos [30, 33].

Se por um lado a produção fotoquímica de produtos de baixo peso molecular e de nutrientes biodisponíveis podem levar a um aumento da biodegradação, por outro lado podem produzir o efeito contrário, uma vez que a radiação solar diminui a biodegradação de outros compostos, como por exemplo das proteínas, e a radiação UV dá origem a compostos tóxicos que podem persistir durante dias e que reduzem o crescimento de fitoplâncton. Trabalhos realizados em diferentes zonas geográficas fornecem resultados contraditórios, sugerindo que o impacto da radiação solar na biodisponibilidade da matéria orgânica dissolvida parece poder depender da labilidade biológica da matéria orgânica irradiada [16], da sua composição bioquímica e das condições ambientais [49].

Outro efeito resultante da interacção entre a radiação solar e a matéria orgânica dissolvida é a perda de cor, designada por fotobranqueamento, provavelmente devido à quebra dos constituintes aromáticos [34, 41, 50]. A perda de cor afecta as propriedades ópticas da água e influencia a penetração da radiação. As alterações da penetração da

luz nas zonas mais profundas afecta a exposição dos microorganismos à luz solar e pode alterar negativa ou positivamente a sua actividade [25, 31, 37].

Deste modo, a escala de tempo e a dependência espectral do processo de fotobranqueamento tornam-se importantes para perceber a distribuição e a dinâmica da matéria orgânica cromofórica e o seu impacte nos ambientes aquáticos. A fotoreactividade da matéria orgânica provoca alterações no espectro de absorção electrónica da matéria orgânica assim como na intensidade de fluorescência e consequentemente no respectivo espectro [44]. A fim de conseguir obter uma melhor interpretação do fotobranqueamento nos sistemas aquáticos é essencial adquirir informação quantitativa da dependência espectral da cinética das perdas de absorção e de fluorescência [25, 51].

Existe uma grande quantidade de estudos efectuados com a matéria orgânica dissolvida de águas naturais, mas as reacções fotoquímicas envolvendo os diferentes constituintes da matéria orgânica, a extensão da degradação e as alterações da composição dessa matéria ainda não estão totalmente esclarecidas. Como já foi referido anteriormente, a matéria orgânica macromolecular dos efluentes de fábricas de papel, embora seja semelhante, apresenta algumas diferenças. À excepção de estudos sobre o papel da radiação solar simulada no processo de tratamento de efluentes mediado por catalisadores, foram apenas encontrados três trabalhos realizados sobre a fotodegradação da matéria orgânica dissolvida em efluentes de fábricas de produção de pasta de papel kraft. Archibald and Roy-Arcand [36] estudaram o papel da luz na remoção da cor e do cloro da fracção de elevado peso molecular de efluentes de branqueamento de pasta de papel kraft, utilizando luz artificial de conteúdo espectral e fluxo de fótons conhecidos. Este trabalho incidiu principalmente no estudo dos factores que contribuem para o fotobranqueamento e para a mineralização do AOX, nomeadamente, a presença do oxigénio dissolvido, os comprimentos de onda da luz incidente, a concentração de AOX e, também, no estudo da toxicidade deste material antes e após irradiação. Archibald *et al* [22] desenvolveram um estudo com objectivo similar, só que utilizaram os efluentes finais de fábricas de produção de pasta kraft após sofrerem tratamento biológico e controlaram o fotobranqueamento e a mineralização do AOX, não em laboratório com luz artificial, mas sim *in situ*, colocando os efluentes em sacos fechados, permeáveis à luz e a gases, a várias profundidades num lago. Vähätalo *et al* [37] desenvolveram estudos no sentido de obter um modelo de rendimento quântico que permitisse prever o fotobranqueamento a uma determinada profundidade e em toda



a coluna de água e no sentido de determinar a dependência espectral do fotobranqueamento. Para este estudo utilizaram misturas de efluente de fábricas de produção de pasta kraft e água proveniente de um lago, as quais foram devidamente acondicionadas e submetidas a radiação solar num lago de água natural.

Em qualquer um destes estudos não foram abordadas as alterações estruturais nem as alterações de tamanho molecular que ocorreram na matéria orgânica dissolvida dos efluentes provocadas pela radiação às quais estes foram expostos. Estas modificações na matéria orgânica são importantes para avaliar a influência dos efluentes provenientes das fábricas de pasta de papel kraft na composição das substâncias húmicas dissolvidas em águas naturais.

## **2.5 O fraccionamento como técnica de caracterização da matéria orgânica dissolvida nos efluentes**

Os principais métodos de caracterização da matéria orgânica macromolecular presente nos efluentes de fábricas de celulose consistem na degradação química seguida da identificação dos produtos resultantes da degradação, na caracterização espectroscópica recorrendo a diferentes técnicas e na determinação da distribuição de tamanhos moleculares por fraccionamento da matéria orgânica.

Uma das técnicas mais frequentemente utilizada para fraccionamento da matéria orgânica de águas naturais, assim como dos efluentes de fábricas de pasta de papel, é a ultrafiltração, que consiste na utilização de uma série de membranas com porosidades consecutivamente menores, que permite isolar fracções de diferentes tamanhos moleculares, também consecutivamente menores, correspondentes ao *molecular weight cut-off* da membrana utilizada na ultrafiltração. O termo *molecular weight cut-off* (MWCO) define o menor peso molecular das moléculas que deverão ser retidas, quase na sua totalidade, por uma determinada membrana [52].

O valor do MWCO é estabelecido através da calibração da membrana com moléculas de peso molecular conhecido. A calibração e a atribuição do valor do MWCO são efectuadas com base nas características de rejeição de moléculas globulares. A

exactidão da especificação do valor MWCO depende, antes de mais, do grau de semelhança entre as moléculas presentes na solução a fraccionar e as moléculas usadas na calibração da membrana [53].

O modelo molecular que parece ser o mais apropriado e o mais consensual para as substâncias húmicas de origem natural em solução é o modelo helicoidal, considerando a sua estrutura química irregular e as ligações intra e intermoleculares [54]. Variações nas condições de pH e força iónica provocam mudanças na sua configuração, nomeadamente na sua forma e tamanho, e, conseqüentemente, efeitos na determinação do peso molecular. O ideal seria efectuar a calibração das membranas utilizadas para fraccionamento de substâncias húmicas recorrendo a moléculas com este tipo de comportamento, o que não tem sido possível.

Em vários trabalhos realizados com matéria orgânica dissolvida de efluentes de branqueamento utilizando a técnica de ultrafiltração, o fraccionamento corresponde apenas a uma primeira etapa na determinação da gama de massas moleculares. Os autores não se baseiam nos valores de MWCO das membranas para a atribuição de massas moleculares às fracções, sendo estas determinadas por outras técnicas após fraccionamento por ultrafiltração. As condições experimentais nas quais é efectuado o fraccionamento, assim como o método utilizado para a avaliação da gama de massas moleculares, pode levar à obtenção de resultados diferentes.

Relativamente às técnicas de ultrafiltração utilizadas no fraccionamento da matéria orgânica dissolvida, o processo pode ser conduzido através de dois modos de operação distintos: a diafiltração e a concentração.

No modo de diafiltração o volume do sistema mantém-se constante através da adição de um volume de solvente correspondente ao volume perdido como solução permeada. Dado que o volume do sistema permanece constante, a concentração das macromoléculas retidas também se apresenta constante, enquanto que a concentração das moléculas na solução permeada diminui ao longo do tempo. A operação decorre até um determinado volume ser permeado na membrana, volume esse previamente estabelecido e regra geral múltiplo do volume inicial da solução [53].

No modo de concentração o volume do sistema não permanece constante. Os solutos permeados são removidos da solução retida por redução do volume inicial da

solução. A solução retida pode sofrer nova diluição e é novamente submetida a ultrafiltração [52].

Foram descritos vários modelos matemáticos para descrever o transporte dos solutos e solventes através de membranas. Todos os modelos se baseiam no conceito de factor de rejeição de um soluto. O factor de rejeição ( $R$ ) é definido de acordo com a Equação (2.1), em que  $C_p$  representa a concentração do soluto na solução permeada e  $C_r$  representa a concentração do soluto na solução retida [52].

$$R = 1 - \frac{C_p}{C_r} \quad \text{Equação (2.1)}$$

Os valores de  $C_p$  e de  $C_r$  referem-se a concentrações instantâneas em cada momento do processo da ultrafiltração.

O valor  $(1-R)$  é definido como coeficiente de permeação do soluto ( $P_c$ ). A retenção total de solutos pela membrana corresponde quantitativamente a um factor de rejeição igual a 1, enquanto que a permeação total corresponde a um factor de rejeição igual a 0 [52].

De acordo com estes modelos, a concentração instantânea de um dado soluto na solução retida ( $C_r$ ), em qualquer momento do processo de ultrafiltração, pode ser calculada através da Equação (2.2) para o modo de concentração, técnica utilizada no presente trabalho, em que  $C_{f0}$ ,  $V_0$  e  $V_p$  representam a concentração inicial do soluto na amostra, o volume inicial da amostra e o volume da solução permeada até ao momento, respectivamente [52, 53].

$$C_r = C_{f0} \left[ \frac{V_0}{(V_0 - V_p)} \right]^{(1-P_c)} \quad \text{Equação (2.2)}$$

A concentração instantânea de um soluto com um coeficiente de permeação superior a zero na solução permeada ( $C_p$ ) é estimada através da Equação (2.3). Esta equação é obtida multiplicando ambos os membros da Equação (2.2) pelo coeficiente de permeação ( $P_c = C_p/C_r$ ).

$$C_p = P_c C_{f0} \left[ \frac{V_0}{(V_0 - V_p)} \right]^{(1-P_c)} \quad \text{Equação (2.3)}$$

A equação apresentada foi desenvolvida para o estudo da permeação de um soluto. A estimativa do coeficiente de permeação de misturas complexas (como os ácidos húmicos e os ácidos fúlvicos) através da aplicação de modelos matemáticos reflecte a contribuição de cada um dos componentes da mistura para a quantificação do mesmo. A aplicação de modelos matemáticos de permeação a amostras de substâncias húmicas naturais resultou na obtenção de valores de permeação entre 0 e 1 [50, 55], o que sugere que as membranas de ultrafiltração oferecem uma certa resistência à permeação dos solutos, provavelmente relacionada com a conformação das moléculas e/ou com a orientação espacial das moléculas em relação ao poro.

## 2.6 Referências

- [1] Sjöström, E. (1993). *Wood Chemistry Fundamentals and Applications*, 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, California, USA.
- [2] Sjöström, E. and Westermarck, U. (1999) In *Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping, and Papermaking*, eds E. Sjöström and R. Alén, pp. 1-19. Springer Series in Wood Science, Berlin, Germany.
- [3] Brunow, G., Lundquist, K. and Gellerstedt, G. (1999) In *Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping, and Papermaking*, eds E. Sjöström and R. Alén, pp. 77-124. Springer Series in Wood Science, Berlin, Germany.
- [4] Solomon, K., Bergman, H., Huggett, R., Mackay, D. and McKague, B. (1996). A review and assessment of the ecological risks associated with the use of chlorine dioxide for the bleaching of pulp. *Pulp Pap. Can.* **97**, 35-44.
- [5] Biermann, C.J. (1996) *Handbook of Pulping and Papermaking*, 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, California, USA
- [6] Fengel, D. and Wegener, G. (1983). *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. Walter de Gruyter, Berlin, Germany.
- [7] McCubbin, N. (1983). *The Basic Technology of the pulp and the paper industry and its environmental protection practises* Minister of Supply and Services Canada, Ottawa, Canada.
- [8] Kinstrey, R.B. (1993). An overview of strategies for reducing the environmental impact of bleach-plant effluents. *Tappi J.* **76**, 105-113.
- [9] Barroca, M. J. M. C., Seco, M., Fernandes, P. M. M., Ferreira, L. M. G. A. and Castro, J. A. A. M. (2001) Reduction of AOX in the Bleach Plant of a Pulp Mill. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 4390-4393.
- [10] Gremm, J. Th. And Frimmel, F. H., (2000). Characterization of AOX by Fractionation Analysis and Size-exclusion Chromatography. *Acta hydrochim. hydrobiol.* **28**, 202-211.

- [11] Bajpai, P. and Bajpai, P. K. (1997) Reduction of organochlorine compounds in bleach plant effluents. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* **57**, 213-252.
- [12] Berry, R. M., Luthe, C. E., Voss, R. H., Wrist, P. E., Axegard, P., Gellerstedt, G., Lindblad, P-O. and Pöpke, I. (1991) The effects of recent changes in bleached softwood kraft mill technology on organochlorine emissions: an international perspective. *Pulp Pap. Can.* **92**, 43-55.
- [13] Jokela, J. K. and Salonen, M. S. (1992). Molecular weight distributions of organic halogens in bleached kraft pulp mill effluents. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 1190-1197.
- [14] Dahlman, O., Mörck, R. and Knnutinen, J. (1999) In *Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping, and Papermaking*, eds E. Sjöström and R. Alén, pp. 233-268. Springer Series in Wood Science, Berlin, Germany.
- [15] Duarte, R. (2001) Fraccionamento de substâncias húmicas provenientes de efluentes de fabrico de pasta kraft lançados em águas costeiras. *Tese de Dissertação de Mestrado*. Universidade de Aveiro.
- [16] Santos, E. B. H. and Duarte, A. C. (1998). The influence of pulp and paper mill effluents on the composition of the humic fraction of the aquatic organic matter. *Wat. Res.* **32**, 597-608.
- [17] Hayes, M. H. B. (1997) In *Humic Substances in Soils, Peats and Water- Health and Environmental Aspects*, eds M. H. B. Hayes and W. S. Wilson, pp. 3-30. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom.
- [18] Dahlman, O., Mörck, R., Ljungquist, P., Reimann, A., Johansson, C., Borén, H. and Grimvall, A. (1993). Chlorinated structural elements in high molecular weight organic matter from unpolluted waters and bleached kraft mill effluents. *Environ. Sci. Technol.* **27**, 1616-1620.
- [19] Kukkonen, J. (1992). Effects of lignin and chlorolignin in pulp mill effluents on the binding and bioavailability of hydrophobic organic pollutants. *Wat. Res.* **26**, 1523-1532.
- [20] Kringstad, K. P. and Lindström, K. (1984). Spent liquors from pulp bleaching. *Environ. Sci. Technol.* **18**, 236A-248A.

- [21] Yousefian, S. and Reeve, D.W. (2000). Classes of compounds responsible for COD and colour in bleached kraft mill effluents. *Tappi International Environmental Conference*. Denver, CO, May 7-10.
- [22] Archibald, F., Roy-Arcand, L. and Méthot, M. (1997) Time, sunlight, and the fate of biotreated kraft mill organochlorines (AOX) in nature. *Wat. Res.* **31**, 85-94.
- [23] Bertilsson, S. and Tranvik, L. J. (2000) Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes. *Limnol. Oceanogr.* **45**, 753-762.
- [24] De Hann, H. (1993). Solar UV- light penetration and photodegradation of humic substances in peaty lake water. *Limnol. Oceanogr.* **38**, 1072-1076.
- [25] Del Vecchio, R. and Blough, N. V. (2002). Photobleaching of chromophoric dissolved organic matter in natural waters: kinetics and modeling. *Mar. Chem.* **78**, 231-253.
- [26] Engelhaupt, E., Bianchi, T. S., Wetzel, R. G. and Tarr, M. A. (2003). Photochemical transformations and bacterial utilization of high- molecular- weight dissolved organic carbon in a Southern Louisiana tidal stream (Bayou Trepagnier). *Biogeochemistry* **62**, 39-58.
- [27] Gao, H. and Zepp, R. G. (1998). Factors influencing photoreactions of dissolved organic matter in a Coastal River of the Southeastern United States. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 2940-2946.
- [28] Granéli, W., Lindell, M. and Tranvik, L. (1996). Photo- oxidative production of dissolved inorganic carbon in lakes of different humic content. *Limnol. Oceanogr.* **41**, 698-706.
- [29] Kieber, R. J., Zhou, X. and Mopper, K. (1990). Formation of carbonyl compounds from UV- induced photodegradation of humic substances in natural waters: Fate of riverine carbon in the sea. *Limnol. Oceanogr.* **35**, 1503-1515.
- [30] Moran, M. A. and Zepp, R. G. (1997). Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, **42**, 1307-1316.

- [31] Moran, M. A., Sheldon Jr., W. M., and Zeep, R. G. (2000). Carbon loss and optical property changes during long- term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **45**, 1254-1264.
- [32] Osburn, C. L., Morris, D. P., Thorn, K. A. and Moeller, R. E. (2001). Chemical and optical changes in freshwater dissolved organic matter exposed to solar radiation. *Biogeochemistry* **54**, 251-278.
- [33] Vähätalo, A. (2000). Role of photochemical reactions in the biogeochemical cycling of detrital carbon in aquatic environments. *Academic Dissertation in Microbiology*. University of Helsinki, Finland.
- [34] Waiser, M. J. and Robarts, R. D. (2004). Photodegradation of DOC in a shallow prairie wetland: evidence from seasonal changes in DOC optical properties and chemical characteristics. *Biogeochemistry* **69**, 263-284.
- [35] Kulovaara, M., Corin, N., Backlund, P. and Tervo, J. (1996). Impact of UV<sub>254</sub>- radiation on aquatic humic substances. *Chemosphere* **33**, 783-790.
- [36] Archibald, F. and Roy- Arcand, L. (1995). Photodegradation of high molecular weight kraft bleachery effluent organochlorine and color. *Wat. Res.* **29**, 661-669.
- [37] Vähätalo, A. V., Salonen, K., Saski, E., Salkinoja-Salonen, M. S. (2002). Bleaching of color of kraft pulp mill effluents and natural organic matter in lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **59**, 808-818.
- [38] Schmitt- Kopplin, P., Hentkorn, N., Schulten, H-R. and Kettrup, A. (1998). Structural changes in a dissolved soil humic acids during photochemical degradation process under O<sub>2</sub> and N<sub>2</sub> atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 2531-2541.
- [39] Faust, B. C. (1989) In *The Handbook of Environmental Chemistry- Volume 2, Part L- Reactions and Processes*, ed O. Hutzinger, pp. 101-122. Springer- Verlag Berlin Heidelberg New York.
- [40] Zafiriou, O. C., Jousset- Dubien, J., Zepp, R. G. and Zika, R. G. (1984). Photochemistry of natural waters. *Environ. Sci. Technol.* **18**, 358A-371A.
- [41] Brinkmann, T., Sartorius, D. and Frimmel, F. H. (2003). Photobleaching of humic rich dissolved organic matter. *Aquat. Sci.* **65**, 415-424.



- [42] Stumm, W. and Morgan, J.J. (1996). *Aquatic Chemistry- Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters* 3<sup>rd</sup> ed. John Wiley & Sons, Inc., Canada.
- [43] Boule, P., Bolte, M. and Richard, C. (1989) In *The Handbook of Environmental Chemistry- Volume 2, Part L- Reactions and Processes*, ed O. Hutzinger, pp. 181-215. Springer- Verlag Berlin Heidelberg New York.
- [44] Zepp, R. G. (1988) In *Humic Substances and their Role in the Environment*, eds F. H. Frimmel and R. F. Christman, pp. 193-214. John Wiley & Sons Limited, S. Bernhard, Dahlem Konferenzen.
- [45] Scully, N. M., Cooper, W. J. and Tranvik, L. J. (2003). Photochemical effects on microbial activity in natural waters: the interaction of reactive oxygen species and dissolved organic matter. *FEMS Microbiol. Ecol.* **46**, 353-357.
- [46] Wang, G-S., Liao, C-H. and Wu, F-J., (2001). Photodegradation of humic acids in presence of hydrogen peroxide. *Chemosphere* **42**, 379-387.
- [47] Frimmel, F. H., Hargitai, L., Hennes, E. C., Huc, A. Y., Müller- Wegener, U. Niemeyer, J., Nissenbaum, A., Sekoulov, I., Tipping, E., Weber, J. H. and Zeep, R. G. (1988) In *Humic Substances and their Role in the Environment*, eds F. H. Frimmel and R. F. Christman, pp. 245-256. John Wiley & Sons Limited, S. Bernhard, Dahlem Konferenzen.
- [48] Opsahl, S. and Zepp, R. G. (2001). Photochemically- induced alteration of stable carbon isotope ratios ( $\sigma^{13}\text{C}$ ) in terrigenous dissolved organic carbon. *Geophys. Res. Lett.* **28**, 2417-2420.
- [49] Opsahl, S. and Benner, R. (1998). Photochemical reactivity of dissolved lignin in river and ocean waters. *Limnol. Oceanogr.* **43**, 1297-1304.
- [50] Tadanier, C. J., Berry, D. F. and Knocke, W. R. (2000). Dissolved organic matter apparent molecular weight distribution and number- average apparent molecular weight by batch ultrafiltration. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 2348-2353.
- [51] Twardowski, M. S. and Donaghay, P. L. (2002). Photobleaching of aquatic dissolved materials: Absorption removal, spectral alterations, and their interrelationship. *J. of Geophys. Res.* **107**, (6-1)-(6-12).

- [52] Cheryan, M. (1998) *Ultrafiltration and microfiltration handbook*, Technomic Publishing Company, Inc., Pennsylvania.
- [53] Kilduff, J. and Weber Jr, W. J. (1992). Transport and separation of organic macromolecules in ultrafiltration processes. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 569-577.
- [54] Swift, R. S. (1989) In *Humic Substances II- In Search of Structure*, eds M. H. B. Hayes, P. MacCarthy, R. L. Malcolm and R. S. Swift, pp. 449-465. John Wiley & Sons, Chichester, England.
- [55] Hoffmann, S. R., Shafer, M. M., Babiarz, D. E. and Armstrong, D. E. (2000). A critical evaluation of tangential- flow ultrafiltration for trace metal studies in freshwater systems. 1- organic carbon. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 3420-3427.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**



### **3.1 Degradação fotoquímica dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global de uma fábrica de pasta kraft branqueada**

Nesta secção estão descritos todos os procedimentos utilizados, os quais incluem a identificação da amostra dos ácidos fúlvicos do efluente, a preparação das soluções dos mesmos para as experiências de exposição solar e a caracterização espectroscópica quer das soluções, quer dos ácidos fúlvicos antes e após a exposição solar.

#### **3.1.1 Amostra de ácidos fúlvicos**

No presente trabalho foi utilizada uma amostra de ácidos fúlvicos extraída de um efluente global, após tratamento biológico, de uma fábrica de pasta Kraft branqueada, que utiliza a madeira de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) como matéria-prima. O isolamento da matéria húmica do efluente já tinha sido previamente efectuado, de acordo com o procedimento que se passa a descrever. O efluente foi filtrado através de membranas com 0,45µm de porosidade, acidificado a pH 2,0 e bombeado através de uma coluna de resina XAD-8. A eluição dos ácidos orgânicos adsorvidos foi efectuada através da passagem em contracorrente de NaOH 0,1M e o eluato foi imediatamente acidificado a pH 3,0-4,0. Os ácidos húmicos foram precipitados, acidificando o eluato a pH 1,0 e depois separados dos ácidos fúlvicos por centrifugação a mais de 6000 rpm. Os ácidos húmicos e fúlvicos foram posteriormente dessalinizados de acordo com o procedimento descrito por Santos e Duarte [1]. As soluções foram liofilizadas e os ácidos húmicos e fúlvicos obtidos foram acondicionados num exsiccador com sílica gel e protegidos da luz. Todas as soluções de ácidos fúlvicos utilizadas no presente trabalho para as diferentes experiências de exposição solar, foram preparadas a partir desta amostra de ácidos fúlvicos.

### 3.1.2 Preparação e exposição solar das soluções de ácidos fúlvicos

Foram preparadas soluções (1000 a 1200mL) dos ácidos fúlvicos do efluente, de concentrações aproximadamente  $100\text{mgL}^{-1}$  em tampão fosfato  $10^{-3}\text{M}$  ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,) e força iónica  $0,1\text{M}$  ajustada com  $\text{NaCl}$ , e em água desionizada. Estas soluções foram transferidas para tubos de quartzo (com capacidade de aproximadamente 200mL cada), tapados com plástico perfurado e colocados no telhado do Departamento de Química da Universidade de Aveiro. Os tubos foram colocados num plano inclinado permitindo assim que uma maior superfície do tubo ficasse exposta à radiação solar. A exposição solar destas soluções foi efectuada em diferentes épocas do ano e com duração variável, tendo sido realizadas um total de quatro experiências. Para todas as experiências foi mantido no escuro, durante o mesmo período da exposição solar, (num balão envolvido com papel de alumínio) cerca de 100mL da solução inicial, para efectuar o controlo. A solução de ácidos fúlvicos da 1ª experiência foi preparada em tampão, enquanto que as soluções das restantes experiências foram preparadas em água desionizada. Nas 2ª, 3ª e 4ª experiências, o pH das soluções iniciais foi ajustado a 6-7 com  $\text{NaOH}$  ( $0,1\text{M}$  e  $0,01\text{M}$ ).

A energia solar recebida foi calculada com base nos dados de irradiância solar ( $\text{W/m}^2$ ) medida de hora a hora, fornecidos pela Torre Meteorológica do Departamento de Física da Universidade de Aveiro, situada junto ao local onde as soluções foram colocadas. A energia solar ( $\text{J/m}^2$ ) recebida foi calculada da seguinte forma:

$$\sum_{i=1}^n \bar{I}_i \times 3600$$

em que,  $n$  corresponde ao número total de horas de exposição solar e  $\bar{I}_i$ , ao valor da irradiância solar média a cada hora.

### 3.1.3 Acompanhamento das experiências de degradação fotoquímica das soluções

Para as diferentes experiências foram efectuados espectros de fluorescência molecular síncrona e espectros de ultravioleta visível das soluções de ácidos fúlvicos

antes da exposição solar e no final da mesma conforme as condições descritas em 3.2.1 e 3.2.2, respectivamente.

#### **3.1.4 Extracção, dessalinização, protonação e liofilização dos ácidos fúlvicos das soluções expostas à radiação solar para posterior caracterização espectroscópica**

O método de dessalinização aplicado às soluções expostas à radiação solar consistiu na utilização de uma coluna de resina XAD-8, procedendo-se à adaptação do método descrito por Santos e Duarte [1]. Foram utilizadas colunas de vidro com resina XAD-8 e de troca catiónica na forma  $H^+$ , as quais foram devidamente preparadas antes da sua utilização e entre cada uma das dessalinizações, conforme recomendado por Malcom [2]. Foram adaptados tubos de teflon às colunas de vidro e estes ligados a uma bomba peristáltica. Este procedimento envolveu as seguintes etapas: primeiro, a solução de ácidos fúlvicos, a  $pH \approx 2$ , foi bombeada através da coluna de resina XAD-8 até a cor escura da solução atingir aproximadamente 1/3 da altura da coluna; de seguida, para remover os sais do volume morto da coluna, fez-se passar através da mesma água desionizada até a condutividade à saída ser inferior a  $250 \mu S/cm$  (nesta fase, caso o efluente da coluna comesse a sair corado, este era recolhido, acidificado e incluído noutra fracção da mesma solução na dessalinização seguinte); a fase posterior consistiu na eluição dos ácidos fúlvicos da resina XAD-8, através da passagem em contracorrente de  $NaOH$  0,1M; seguiu-se a protonação dos ácidos fúlvicos por passagem desta solução através da coluna de resina de troca catiónica; por fim, fez-se passar água desionizada, um volume igual ao volume morto da coluna, a fim de arrastar completamente a amostra. Entre a etapa da eluição da resina XAD-8 e a passagem pela coluna de resina de troca catiónica, todo o eluato foi recolhido num recipiente e mantido, para evitar a oxidação, em atmosfera de azoto, a fim de evitar a saturação da resina de troca catiónica, uma vez que a concentração do eluato não é constante, permitindo assim a sua mistura e a diluição das porções mais concentradas. No final deste procedimento as soluções resultantes foram congeladas em azoto líquido e liofilizadas.

### **3.1.5 Caracterização espectroscópica dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à luz solar**

Para os ácidos fúlvicos extraídos das soluções das 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> experiências de exposição solar foram preparadas soluções de aproximadamente 20mg/L e 10mg/L e efectuados espectros de fluorescência molecular síncrona (FMS) e espectros de ultravioleta visível (UV- Vis), conforme as condições descritas em 3.2.1 e 3.2.2, respectivamente. Os valores de absorvância e os valores de fluorescência foram divididos pela concentração das respectivas soluções de forma a normalizá-los e exprimi-los em termos de absortividade específica e intensidade específica de fluorescência. Assim, foi possível atribuir as diferenças espectrais a diferenças estruturais. Adicionalmente foram efectuados espectros de infravermelho com transformadas de Fourier FTIR) e de ressonância magnética nuclear de <sup>13</sup>C do estado sólido (<sup>13</sup>C-RMN), conforme as condições descritas em 3.2.3 e 3.2.4, respectivamente.

## **3.2 Caracterização espectroscópica**

Nesta secção é efectuada uma descrição das condições utilizadas na aplicação das diferentes técnicas espectroscópicas.

### **3.2.1 Espectroscopia de Fluorescência Molecular Síncrona (FMS)**

Os espectros de fluorescência molecular síncronos para um  $\Delta\lambda$  de 60nm, na região de 250 a 500nm ( $\lambda_{\text{excitação}}$ ), foram obtidos num espectrofotómetro JASCO Model FP-770. Foram utilizadas a velocidade de varrimento de 100nm/minuto e fendas de emissão e de excitação de 10nm.



### **3.2.2 Espectroscopia de Ultravioleta- Visível (UV- Vis)**

Para a obtenção dos espectros de ultravioleta- visível das amostras, na região de 230 a 500nm, foi utilizado um espectrofotômetro Shimadzu Model UV 2101 PC e células de quartzo com percurso óptico de 1cm, 2 cm e 5cm, dependendo da absorvância das soluções. Foram utilizados como brancos tampão fosfato ( $10^{-3}\text{M}$ ) e água desionizada (dependendo da amostra)

### **3.2.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier (FTIR)**

Os espectros das amostras foram obtidos num espectrofotômetro de infravermelho de transformadas de Fourier, Magna 550. A resolução utilizada foi de  $4\text{ cm}^{-1}$  e foram acumulados 100 interferogramas para a obtenção de cada espectro. As amostras foram preparadas em pastilhas de KBr (30mg de KBr+0,3mg de amostra). Antes da obtenção de espectro, o compartimento da amostra foi purgado durante 10 minutos com azoto.

### **3.2.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ do Estado Sólido ( $^{13}\text{C}$ - RMN)**

Os espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN dos ácidos fúlvicos foram obtidos num espectrofotômetro de RMN Bruker MSL-400 a 100,61 MHz, utilizando um rotor de 4mm e rotação no ângulo mágico à frequência de 7kHz. O tempo de contacto foi de 1ms, o tempo de repetição 3s e a duração do impulso de  $90^\circ$  aplicado aos prótons de  $4,5\mu\text{s}$ . Os desvios químicos estão expressos em ppm relativamente ao sinal externo do tetrametilsilano (TMS).

### **3.3 Fraccionamento dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global, de uma solução de ácidos fúlvicos após exposição solar e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar**

Nesta secção é descrita a técnica de ultrafiltração utilizada no fraccionamento das diferentes soluções de ácidos fúlvicos, assim como a aplicação dos modelos matemáticos de permeação de solutos através das membranas de ultrafiltração.

#### **3.3.1 Preparação das soluções de ácidos fúlvicos para a ultrafiltração**

Para o fraccionamento dos ácidos fúlvicos iniciais (três réplicas) e dos ácidos fúlvicos após exposição solar da 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> experiências foram preparadas soluções de concentrações aproximadamente  $100\text{mgL}^{-1}$  (no caso dos ácidos fúlvicos após exposição solar, a solução foi preparada com igual proporção de ácidos fúlvicos liofilizados da 3<sup>a</sup> e da 4<sup>a</sup> experiências) em tampão fosfato  $10^{-3}\text{M}$  ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). A força iónica das soluções (0,1M) foi ajustada com NaCl de qualidade analítica.

Efectuou-se, também, uma outra experiência em que a solução final da 1<sup>a</sup> experiência após exposição solar foi imediatamente sujeita a ultrafiltração a fim de analisar a distribuição de tamanhos moleculares de toda a matéria orgânica resultante da irradiação dos ácidos fúlvicos.

#### **3.3.2 Ultrafiltração sequencial das soluções de ácidos fúlvicos**

O processo de ultrafiltração adoptado foi o modo de concentração e o procedimento foi o mesmo para todas as ultrafiltrações efectuadas. Para o efeito foi utilizada uma célula de ultrafiltração Amicon TCF10 com capacidade de 500mL, sob a qual se colocou uma bomba peristáltica para permitir a recirculação da amostra e também o fluxo laminar da solução à superfície da membrana de ultrafiltração. A pressão aplicada foi de 0,8bar e a

velocidade de recirculação foi determinada pelas recomendações do fabricante em função da pressão utilizada. Foram utilizadas três membranas de polietersulfona (Filtron OMEGA, Pall Gelman Sciences) de diferentes MWCO: de 10kDa, de 5kDa e de 1kDa. Seguindo as instruções do fabricante, as membranas antes da utilização foram lavadas com água desionizada e após a utilização foram lavadas com água destilada e NaOH 0,1M e guardadas em NaOH 0,1M a ~4°C.

O procedimento de ultrafiltração seguido encontra-se esquematizado na Figura 3.1. A ultrafiltração foi iniciada com a membrana de maior porosidade, MWCO de 10kDa. A solução de ácidos fúlvicos foi colocada na célula, o processo de ultrafiltração foi iniciado e interrompido após uma redução de volume da solução correspondente a 90% do volume inicial. A solução retida foi removida da célula e, após lavagem do sistema com água desionizada, a solução permeada foi sujeita a nova ultrafiltração. Repetiu-se toda a sequência do processo para as outras membranas por ordem decrescente de porosidade, primeiro para a membrana de MWCO de 5kDa e, por último, para a membrana de MWCO de 1kDa. Da totalidade do processo resultaram quatro fracções: >10kDa, 5-10kDa, 1-5kDa e <1kDa.

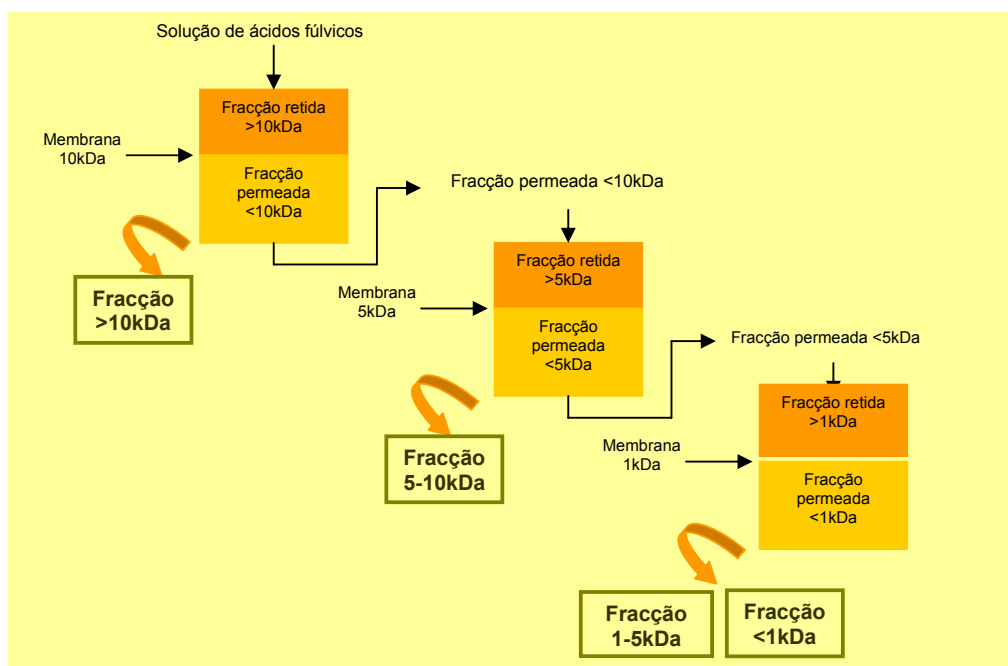


Figura 3.1- Esquema do procedimento de ultrafiltração sequencial no modo de concentração.

### 3.3.3 Aplicação dos modelos matemáticos de permeação

Ao longo do processo de ultrafiltração nas diferentes membranas, foram recolhidas alíquotas de solução permeada, a volumes fixos. A quantificação das concentrações da solução inicial e da concentração das alíquotas da solução permeada recolhidas foi realizada através de leituras de absorvância a 250nm num Espectrofotómetro de Ultravioleta- Visível Shimadzu UV-2101PC. Conforme as Equações (3.1) e (3.2), a absorvância dos solutos permeados é proporcional à sua concentração. Nessas equações  $A_p$  corresponde à absorvância da alíquota da fracção permeada após a ultrafiltração de um determinado volume,  $K$  é constante ( $K = \epsilon_\lambda l$ , em que  $\epsilon_\lambda$  é o coeficiente de extinção molar ao comprimento de onda  $\lambda$  e  $l$  a distância percorrida pelo feixe luminoso através da amostra) e  $A_0$  a absorvância dos solutos permeáveis na solução inicial,

$$A_p = K C_p \quad \text{Equação (3.1)}$$

$$A_0 = K C_{i0} \quad \text{Equação (3.2)}$$

Considerando as Equações (3.1) e (3.2), a Equação 2.3 (secção 2.5) pode ser apresentada na forma descrita pela Equação (3.3).

$$A_p = P_c A_0 \left[ \frac{V_0}{(V_0 - V_p)} \right]^{(1-P_c)} \quad \text{Equação (3.3)}$$

Normalizando esta equação em relação à absorvância inicial,  $A_i$ , obtém-se a Equação (3.4).

$$\frac{A_p}{A_i} = P_c \frac{A_0}{A_i} \left[ \frac{V_0}{(V_0 - V_p)} \right]^{(1-P_c)} \quad \text{Equação (3.4)}$$

Esta equação pode ser linearizada aplicando logaritmos, resultando a Equação (3.5).

$$\ln\left(\frac{A_p}{A_i}\right) = (1-P_c) \ln\left[\frac{V_0}{(V_0 - V_p)}\right] + \ln\left(\frac{P_c A_0}{A_i}\right) \quad \text{Equação (3.5)}$$

O coeficiente de permeação é possível ser estimado através do declive da representação gráfica de  $\ln(A_p/A_i)$  vs  $\ln[V_0/(V_0-V_p)]$ . A ordenada na origem da representação gráfica permite o cálculo de  $A_0$  e, conseqüentemente, a estimativa da distribuição por tamanhos moleculares dos solutos constituintes da amostra [3, 4]. Nas representações gráficas em que se verificaram desvios dos primeiros pontos para valores baixos, provavelmente devido a efeitos de diluição com pequenos volumes de água desionizada utilizada na lavagem do sistema de ultrafiltração e que ficaram retidos nos espaços livres das membranas, estes foram excluídos para o cálculo da equação da recta.

### 3.4 Referências

- [1] Santos, E. B. H. and Duarte, R. (1998). The influence of pulp and paper mill effluents on the composition of the humic fraction of aquatic organic matter. *Wat. Res.* **32**, 597-608
- [2] Malcolm, R. L. (1989) In *Humic Substances II- In Search of Structure*, eds M. H. B. Hayes, P. MacCarthy, R. L. Malcolm and R. S. Swift, pp. 339-372. John Wiley & Sons, Chichester, England.
- [3] Duarte, R. (2001) Fraccionamento de substâncias húmicas provenientes de efluentes de fabrico de pasta kraft lançados em águas costeiras. *Tese de Dissertação de Mestrado*. Universidade de Aveiro.
- [4] Kilduff, J. and Weber Jr, W. J. (1992). Transport and separation of organic macromolecules in ultrafiltration processes. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 569-577.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**





## 4.1 Acompanhamento das experiências de degradação das soluções de ácidos fúlvicos por acção da luz solar

Neste subcapítulo são apresentados e discutidos os resultados do acompanhamento das experiências de fotodegradação das soluções de ácidos fúlvicos.

### 4.1.1 Experiências realizadas e energia solar ( $\text{J/m}^2$ ) recebida durante a exposição solar

Na Tabela 4.1 encontram-se sumariadas as condições utilizadas nas diversas experiências de degradação fotoquímica das soluções dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente. A energia solar recebida ( $\text{J/m}^2$ ) foi calculada de acordo com o descrito na secção 3.1.2.

Tabela 4.1 – Quadro resumo das condições das experiências realizadas.

Experiência	Solução	Horas de exposição solar	Energia solar recebida ( $\text{J/m}^2$ )
1 <sup>a</sup>	solução de ácidos fúlvicos (100mg/L) em tampão fosfato	672	$6,7 \times 10^5$
2 <sup>a</sup>	solução de ácidos fúlvicos (100mg/L) em água desionizada	312	$3,9 \times 10^5$
3 <sup>a</sup>	solução de ácidos fúlvicos (100mg/L) em água desionizada	144	$2,1 \times 10^5$
4 <sup>a</sup>	solução de ácidos fúlvicos (100mg/L) em água desionizada	144	$1,9 \times 10^5$

#### 4.1.2 Variação do pH das soluções de ácidos fúlvicos durante a exposição solar

Vários trabalhos publicados sobre a fotodegradação de matéria orgânica dissolvida em águas naturais referem alterações do pH das soluções irradiadas em relação ao pH inicial da solução [1,2], assim como a influência do pH no próprio processo de fotodegradação [2, 3, 4, 5].

O pH das soluções iniciais e das soluções após exposição solar foi medido e esses valores são apresentados na Tabela 4.2. As variações de pH registadas nas soluções expostas nas diferentes experiências foi semelhante, diminuindo para valores similares, excepto na solução exposta da 1ª experiência, uma vez que esta solução foi efectuada em tampão fosfato. O pH das soluções controlo manteve-se praticamente inalterado.

Tabela 4.2 – Valores do pH das soluções expostas à radiação solar e nas soluções controlo das diferentes experiências.

Experiência	Solução	pH inicial	pH final	$\Delta$ pH
1ª	Solução exposta	6,3	6,0	0,3
2ª	Solução exposta	6,4	4,3	2,1
	Solução controlo	6,4	6,8	0,4
3ª	Solução exposta	6,3	4,5	1,8
	Solução controlo	6,3	6,3	0,0
4ª	Solução exposta	6,7	4,7	2,0
	Solução controlo	6,7	6,2	0,5

Uma diminuição dos valores de pH de amostras de águas naturais expostas à luz solar simulada também foi verificada por Gao and Zepp [1]. Estes autores interpretaram a variação de pH como resultado da formação de produtos ácidos a partir da matéria

orgânica dissolvida das amostras de água, nomeadamente, ácidos carboxílicos, outros compostos contendo grupos carbonilo e hidrocarbonetos orgânicos voláteis. Já Kieber *et al* [6], Moran and Zepp [7] e Bertilsson and Tranvik [2] tinham igualmente identificado ácidos orgânicos de baixo peso molecular como produtos da degradação fotoquímica da matéria orgânica dissolvida em águas naturais, mas não efectuaram o acompanhamento das alterações de pH durante as experiências de fotodegradação das amostras de água. As variações de pH aqui verificadas evidenciam um comportamento das soluções de ácidos fúlvicos extraídos do efluente semelhante ao da matéria orgânica dissolvida em águas naturais. No entanto, há também que considerar que poderá ter ocorrido oxidação das macromoléculas que, por sua vez, levou a um aumento do conteúdo em grupos carboxílicos das mesmas.

#### 4.1.3 Espectroscopia de UV- Vis

Os espectros de UV-Vis das soluções de ácidos fúlvicos iniciais e das mesmas soluções após exposição solar, apresentados na Figura 4.1, mostram que de uma forma geral se verifica uma diminuição da absorvância a todos os comprimentos de onda, diminuição essa que não foi observada nas soluções controlo. Este comportamento é semelhante ao observado em estudos publicados de fotodegradação de matéria orgânica dissolvida de águas naturais [2, 6, 7, 8, 9, 10].

As perdas da absorvância ocorridas nas soluções após exposição solar não foram verificadas nas soluções controlo, tal como foi observado por diversos autores [2, 6, 7, 8, 9, 10], o que permite considerar que as perdas observadas foram provocadas pela exposição solar, como consequência da mineralização parcial da matéria orgânica e/ ou da formação de compostos orgânicos que absorvem menos do que os originais. Isto é possível se ocorrer uma diminuição da quantidade de ligações duplas e menores níveis de insaturação das moléculas [11].

Kieber *et al* [6] demonstraram, em estudos com águas naturais, a existência de uma relação entre a perda de absorvância e a produção fotoquímica de compostos de baixo peso molecular com grupos carbonilo (formaldeído, acetaldeído e glioxalato). A relação entre a perda de absorvância e a formação de compostos orgânicos de baixo peso molecular foi igualmente observada por Gao and Zepp [1]. Estes autores concluíram que uma parte, pelo menos 50%, das reacções fotoquímicas dá origem à formação de

compostos orgânicos que absorvem com menor intensidade na região UV do que a matéria orgânica original.

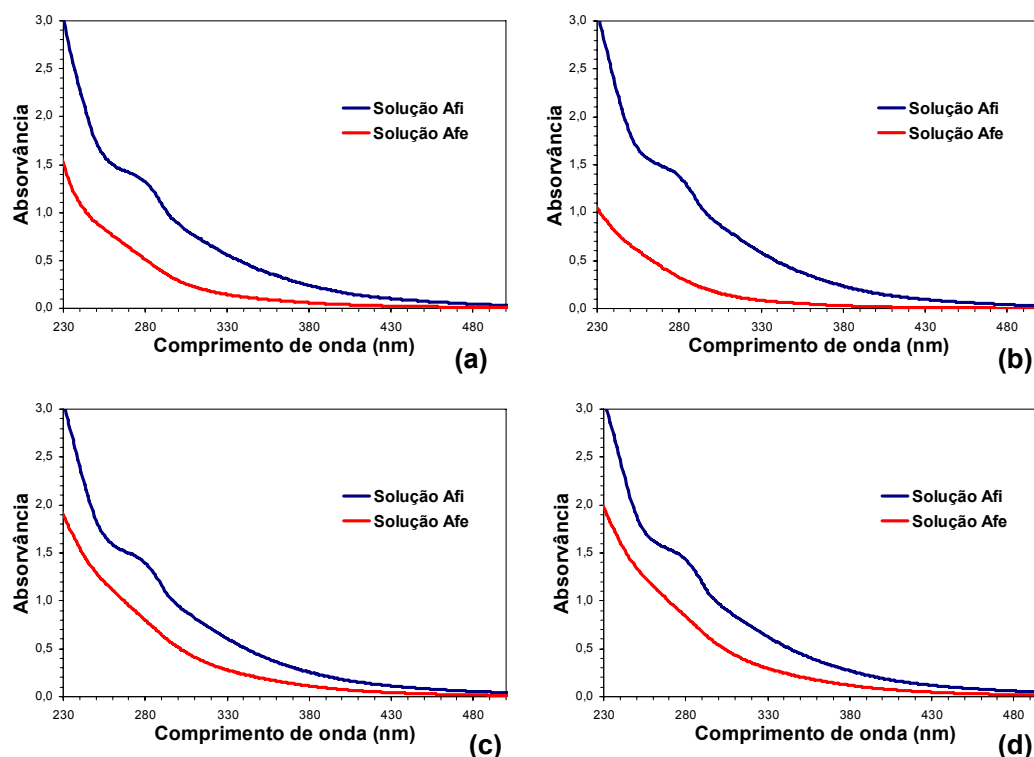


Figura 4.1- Espectros de UV-Vis (230-500nm) das soluções de ácidos fúlvicos iniciais (**Afi**) e das mesmas soluções após exposição solar (**Afe**) da 1ª (**a**), da 2ª (**b**), da 3ª (**c**) e da 4ª (**d**) experiências.

Kieber *et al* [6] registaram a maior diferença entre a absorvância inicial e a absorvância final a  $300 \pm 10$  nm, assim como diferenças menores para comprimentos de onda superiores a 400 nm, do que concluíram que o fotobranqueamento está principalmente relacionado com a absorção de luz na região UV-B (280-320 nm). Segundo os autores, esta região corresponde aos comprimentos de onda responsáveis pela fotoprodução de compostos com grupos carbonilo de baixo peso molecular. A energia a estes comprimentos de onda é suficiente para quebrar ligações C-C das substâncias húmicas. Isto sugere que a fotoprodução de grupos carbonilo está relacionada, pelo menos em parte, com a fotólise directa de ligações C-C das

substâncias húmicas pela luz UV-B. Os mesmos autores verificaram, também, que o grau do fotobranqueamento varia linearmente com a absorvância inicial, verificando-se que o decréscimo de absorvância durante a irradiação é tanto maior quanto maior a absorvância inicial. Engelhaupt *et al* [12] verificaram igualmente uma diminuição da absorvância e a diminuição do tamanho molecular da fracção de elevado peso molecular obtida por ultrafiltração da matéria orgânica de origem natural após exposição à luz solar natural e simulada. No entanto, não encontraram diferenças nesse comportamento em amostras irradiadas com ou sem UV-B, o que parece contrariar os resultados dos autores anteriores. Estes resultados sugerem que as radiações UV-A (320- 400nm) e PAR (400-700nm), que representam uma maior fracção da energia que atinge a superfície terrestre, desempenham um papel mais importante na fotólise da matéria orgânica do que a radiação UV-B.

A maioria dos estudos publicados sobre a fotodegradação de substâncias húmicas refere-se a substâncias húmicas de origem natural. Contudo, os resultados de trabalhos anteriores relativos à composição e caracterização de substâncias húmicas deste tipo de efluente mostram que esta matéria orgânica apresenta maior carácter aromático e maior conteúdo de unidades estruturais de lenhinas, relativamente à matéria orgânica de origem natural [13, 14, 15, 16, 17].

Os espectros das soluções iniciais são idênticos aos obtidos por Duarte *et al* [17] para soluções da mesma amostra de ácidos fúlvicos, apresentando um ombro na região 250-300nm. A absorvância na região ~270 a 280nm é, normalmente, atribuída a transições electrónicas  $\pi$ - $\pi^*$  de estruturas aromáticas tais como fenóis, ácido benzóico, derivados de anilinas, polienos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos [18, 19]. Nos espectros das soluções após exposição solar, este ombro desaparece, sugerindo que ocorre uma degradação das estruturas típicas de lenhinas e que as soluções após exposição solar apresentam um menor conteúdo destas estruturas.

Na Figura 4.2 estão representadas as perdas da absorvância a três comprimentos de onda (250nm, 280nm, e 365nm) das soluções controlo e das soluções após exposição solar em relação às respectivas soluções iniciais. É possível observar que essas perdas de absorvância foram mais acentuadas nas soluções da 1ª e da 2ª experiências relativamente às soluções da 3ª e da 4ª experiências.

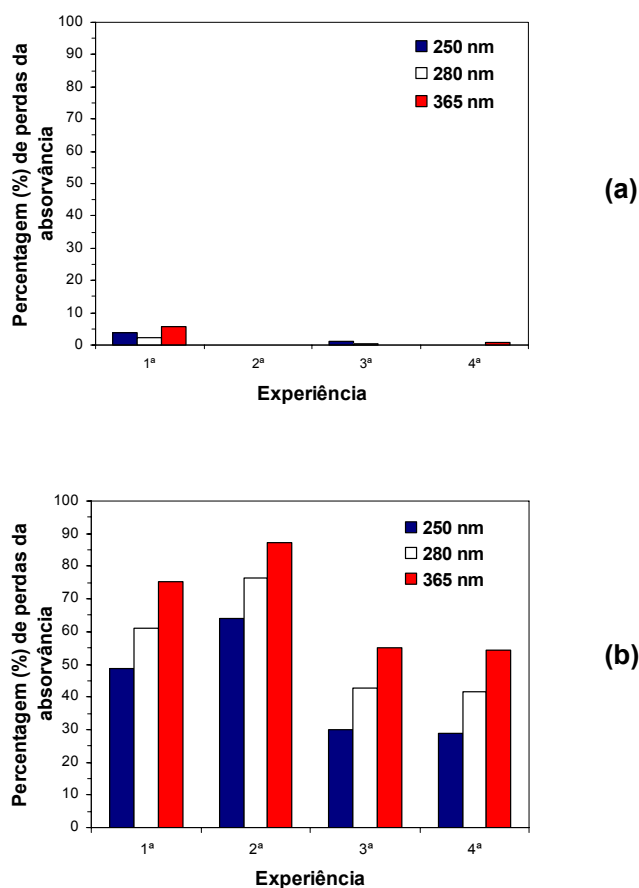


Figura 4.2- Percentagem de perdas (%) da absorvância observadas aos comprimentos de onda de 250nm, de 280nm e de 365nm nas soluções controlo **(a)** e nas soluções após exposição solar **(b)** nas quatro experiências, relativamente às respectivas soluções iniciais.

As pequenas perdas observadas na solução controlo da 1ª experiência poderão ser atribuídas à degradação microbiana, uma vez que o período da experiência foi relativamente longo [9].

Bertilsson and Tranvik [2] demonstraram existir, para águas naturais expostas a radiação solar ultravioleta simulada, uma relação linear entre a energia de radiação absorvida ( $\text{kJm}^{-2}$ ) e a variação da absorvância a 250nm, 280nm e 365nm, em que a absorvância a estes comprimentos de onda diminui com o aumento da energia de radiação absorvida. Brinkmann *et al* [20] estudaram as alterações na matéria orgânica

dissolvida em águas naturais induzidas pela exposição a um simulador de luz UV solar. Verificaram que a alteração relativa da absorvância não é igualmente distribuída ao longo de todo o espectro, com máximos a 345nm e a 225nm e mínimo a 250nm, o que significa que os compostos cromofóricos da matéria orgânica dissolvida são selectivamente alterados ou degradados durante a irradiação.

Opsahl and Benner [9] verificaram, em estudos efectuados para avaliar a reactividade fotoquímica da lenhina dissolvida em águas naturais, a ocorrência de perdas de absorvância superiores para períodos de exposição mais longos, embora a fotodegração não ocorresse sempre ao mesmo ritmo, sendo mais lenta no final; daí sugerirem que, possivelmente, existirá uma fracção da lenhina mais resistente às alterações fotoquímicas e microbiológicas do que a restante que se degradou mais rapidamente. No entanto, há que considerar que a velocidade de degradação fotoquímica da lenhina pode ter diminuído devido ao decréscimo da quantidade da radiação absorvida e estes autores não relacionam os resultados com quantidade de energia solar absorvida, apenas com o número de dias de exposição solar.

Embora no presente trabalho não tenha sido possível obter os valores da quantidade de energia solar absorvida, foi possível determinar a quantidade total da energia solar recebida. Assumindo que a energia solar foi absorvida pelas soluções de forma idêntica, uma vez o procedimento adoptado foi o mesmo para todas as experiências, poder-se-á considerar que as perdas de absorvância mais acentuadas na 1ª e 2ª experiências relativamente à 3ª e 4ª experiências se devem ao facto destas soluções terem estado expostas a uma maior quantidade de energia solar. Porém, a quantidade de energia solar à qual a solução da 1ª experiência esteve exposta foi superior em relação à solução da 2ª experiência, sendo, no entanto, verificadas maiores perdas de absorvância na última. Este caso poderá estar relacionado com o facto da solução da 1ª experiência ter sido preparada em solução tampão e a solução da 2ª experiência em água desionizada, do que resultou uma diminuição de pH mais acentuada na solução da 2ª experiência, assim como nas soluções da 3ª e 4ª experiências, que foram preparadas da mesma forma. Foi demonstrado em estudos publicados referentes às alterações fotoquímicas da matéria orgânica em águas naturais [2, 3, 4, 5] que o pH influencia as reacções que ocorrem, verificando-se um aumento da fotoreactividade da matéria orgânica como consequência da acidificação. Scully *et al* [21] verificaram que a produção de espécies reactivas de oxigénio em águas naturais é mais favorável em meios com pH baixo, o que faz com que o aumento da biodisponibilidade da matéria

orgânica dissolvida em águas ácidas não seja tão notório devido a uma rápida conversão dos substratos disponíveis da matéria orgânica em carbono inorgânico. Bertilsson and Tranvik [2] verificaram em águas irradiadas de lagos com pH baixo e elevadas concentrações de ferro que a produção de carbono inorgânico nessas águas era superior relativamente à produção em águas com as mesmas características de absorção mas com pH neutro. No entanto, Gao and Zepp [1] obtiveram resultados contraditórios em estudos efectuados em laboratório, verificando um aumento de 50% na produção de carbono inorgânico dissolvido com o aumento do pH de 4 para 7. Os autores relacionaram estes resultados com a existência de um mecanismo envolvendo o ferro como catalisador, uma vez que o efeito do pH desaparecia com a adição de fluoreto, que anula o efeito do ferro na foto-oxidação. Este mecanismo, no presente trabalho, não parece estar envolvido, uma vez que as soluções de ácidos fúlvicos, em princípio, não continham ferro.

Os resultados obtidos com a matéria orgânica do efluente revelam que esta matéria orgânica apresenta um comportamento idêntico ao obtido por Scully *et al* [21] e por Bertilsson and Tranvik [2] e ainda por outros autores [3, 5, 22]. No entanto, não foi encontrada na literatura disponível uma explicação para o aumento da fotoreactividade com a acidificação na ausência de ferro.

Paralelamente às perdas de absorvância a determinados comprimentos de onda, a razão das absorvâncias a 250nm e a 365nm, tem sido amplamente utilizada como indicador de diferenças estruturais de substâncias húmicas [8, 10, 17, 19, 23].

A razão  $E_2/E_3$ , tem sido relacionada com a aromaticidade em estudos com substâncias húmicas naturais [8, 19, 23] e, também, em estudos com substâncias húmicas extraídas de efluente [17]. Estes estudos têm revelado valores de  $E_2/E_3$  maiores para substâncias húmicas com maior percentagem de aromaticidade. Peuravuori e Pihlaja [19] verificaram também que a razão  $E_2/E_3$  aumenta com a diminuição do tamanho molecular. Assim, a razão  $E_2/E_3$  tem sido utilizada para acompanhar as alterações estruturais durante a fotodegradação da matéria orgânica de águas naturais [1, 8, 10, 20, 24].

Na Figura 4.3 estão representados os valores da razão das absorvâncias a 250nm e a 365nm, normalmente designada por razão  $E_2/E_3$ , para as soluções controlo, para as soluções após exposição solar e para as respectivas soluções iniciais.



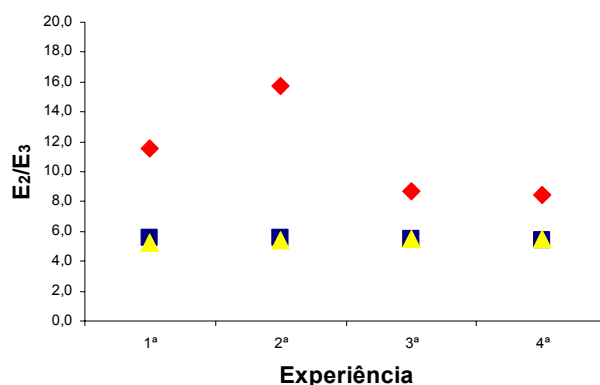


Figura 4.3- Razão  $E_2/E_3$  para as soluções iniciais (■), soluções controle (▲) e soluções expostas à radiação solar (◆), correspondentes a cada uma das experiências.

Brinkmann *et al* [20] observaram, em estudos de irradiação de águas naturais com luz solar simulada, um aumento da razão  $E_2/E_3$  durante a irradiação e demonstraram, utilizando a cromatografia de exclusão molecular, que o aumento da razão  $E_2/E_3$  está relacionado com a diminuição da média dos tamanhos moleculares. Esta relação foi igualmente demonstrada por De Hann [8] e Osburn *et al* [10], também em estudos com águas naturais. Para estes últimos autores, a verificação do aumento da razão  $E_2/E_3$  foi particularmente importante para complementar os resultados fornecidos pelo espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN que sugeriam a ocorrência de alterações na estrutura química da matéria orgânica dissolvida por ação da exposição solar. Verificaram uma diminuição da absorvância a 320nm cerca de duas vezes superior à perda de carbono orgânico dissolvido. No entanto, a perda de carbono aromático foi semelhante à perda da absorvância a 320nm, sugerindo que o fotobranqueamento não está inteiramente relacionado com a foto-oxidação de todo o carbono orgânico dissolvido a carbono inorgânico, mas também com alterações estruturais da matéria orgânica dissolvida, nomeadamente, relacionadas com a diminuição da aromaticidade.

No presente trabalho, nas soluções controle não se verificaram alterações significativas, enquanto que nas soluções expostas o aumento da mesma razão é evidente, sendo superior nas soluções que estiveram expostas a maior quantidade de radiação solar. Estes resultados sugerem que a fotodegradação de substâncias húmicas do efluente provoca uma diminuição do tamanho molecular e da aromaticidade e que

essa diminuição, por sua vez, leva a uma deslocação da absorção para menores comprimentos de onda, o que vai de encontro aos resultados obtidos em relação à percentagem de perdas, que foi maior a 365nm relativamente aos outros comprimentos de onda mais baixos. Também neste aspecto, o comportamento da matéria orgânica dissolvida nos efluentes face à exposição solar é semelhante ao demonstrado pela matéria orgânica dissolvida em águas naturais.

#### 4.1.4 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

Na Figura 4.4 encontram-se representados os espectros de FMS para um  $\Delta\lambda$  de 60nm das soluções de ácidos fúlvicos iniciais e das mesmas soluções após exposição solar da 2ª, 3ª e 4ª experiências.

Tal como a absorvância, a fluorescência diminuiu após a exposição solar, o que também já tinha sido observado em trabalhos anteriores com amostras de águas naturais [6, 8]. No entanto, estes trabalhos referem apenas a variação da fluorescência, para valores fixos de  $\lambda_{\text{excitação}}$  e de  $\lambda_{\text{emissão}}$ , não apresentando as alterações espectrais.

Os espectros de fluorescência dos ácidos fúlvicos do efluente apresentam características diferentes dos espectros de fluorescência da matéria orgânica dissolvida de origem natural. Trabalhos anteriores realizados com águas superficiais revelaram que os espectros de ácidos fúlvicos isolados de águas contaminadas com este tipo de efluente [15] e do próprio efluente [15, 17] apresentavam um pico ao  $\lambda_{\text{excitação}} \approx 280\text{nm}$ , que não era visível nos ácidos fúlvicos isolados de águas não contaminadas, o que levou a relacionar estes sinais com estruturas derivadas das lenhinas.

Como é possível observar nas Figuras 4.4 e 4.5, os espectros das soluções de ácidos fúlvicos iniciais e das soluções controlo apresentam este pico intenso ao  $\lambda_{\text{excitação}} \approx 280\text{nm}$ . Uma diferença notória entre os espectros das soluções iniciais e as soluções após exposição solar é a diminuição acentuada deste pico.

Na Figura 4.5 estão representados os espectros de FMS da solução de ácidos fúlvicos inicial e da solução controlo da 4ª experiência, a título de exemplo, uma vez que os espectros obtidos nas soluções controlo das outras experiências são idênticos. Nas soluções controlo não se verificaram praticamente alterações.

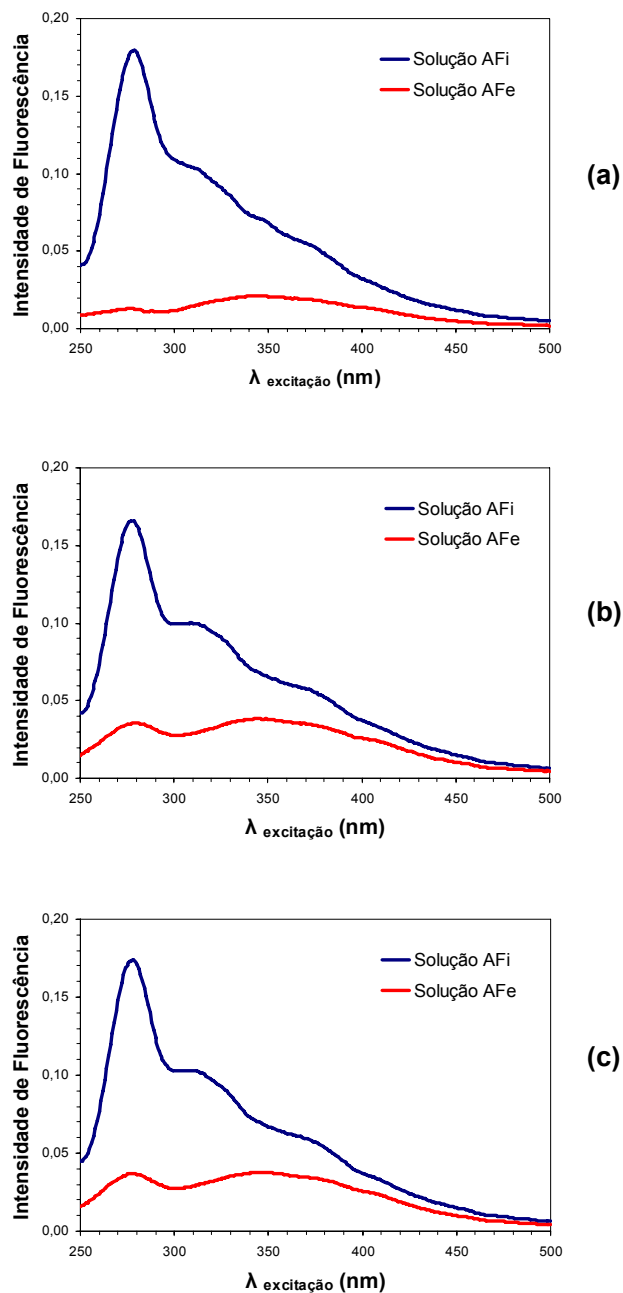


Figura 4.4- Espectros de FMS ( $\Delta\lambda=60\text{nm}$ ) das soluções de ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e das mesmas soluções após exposição solar (**AFe**) da 2<sup>a</sup> (a), da 3<sup>a</sup> (b) e da 4<sup>a</sup> (c) experiências.

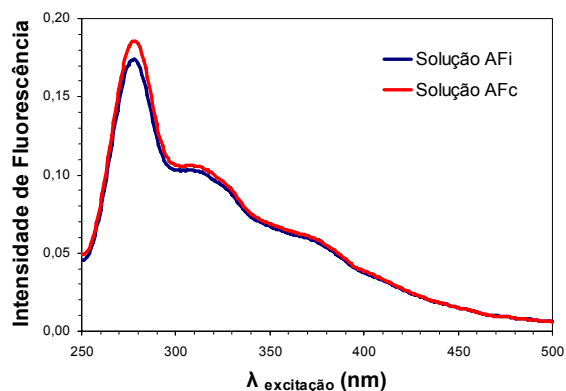


Figura 4.5- Espectros de FMS ( $\Delta\lambda=60\text{nm}$ ) das soluções de ácidos fúlvicos iniciais (AFi) e da solução controle (AFc) da 4ª experiência.

Na Figura 4.6 encontram-se representadas as percentagens de perdas na intensidade da fluorescência observadas para o sinal em questão e também para o  $\lambda_{excitação}=320\text{nm}$ , zona onde surge um pequeno ombro nos espectros das soluções dos ácidos fúlvicos iniciais.

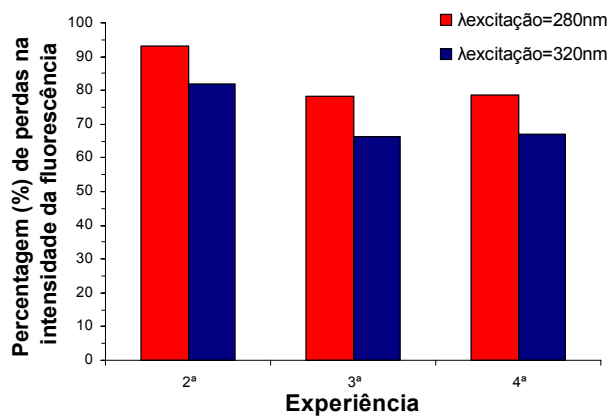


Figura 4.6- Percentagem de perdas (%) da intensidade da fluorescência observadas aos  $\lambda_{excitação}=280\text{nm}$  e  $\lambda_{excitação}=320\text{nm}$  nas soluções após exposição solar em três experiências, relativamente às respectivas soluções iniciais.

Tal como os resultados obtidos através de UV-Vis, também os resultados obtidos através de FMS indicam que a exposição solar das soluções de ácidos fúlvicos extraídos do efluente provoca uma degradação preferencial das estruturas típicas de lenhinas, uma vez que os espectros das soluções após exposição solar não apresentam o pico a  $\lambda_{\text{excitação}}=280\text{nm}$ , o que parece indicar que esta matéria orgânica é mais semelhante à matéria orgânica de origem natural. Estes resultados mostram que as alterações nos espectros de fluorescência não são explicáveis apenas por um decréscimo de concentração de fluoróforos resultante da sua mineralização, como sugerido por Kieber *et al* [6], mas também pela ocorrência de alterações estruturais da matéria orgânica dissolvida. Esta conclusão foi igualmente referida por Waiser *et al* [25] que desenvolveram estudos de fotodegradação com águas naturais com o objectivo de verificar as alterações sazonais de carbono orgânico dissolvido provocadas por processos fotodegradativos. Inicialmente, verificaram que a intensidade de fluorescência aumentava rapidamente com o aumento da concentração de carbono orgânico dissolvido, mas com o decorrer do tempo, enquanto as concentrações continuavam a aumentar linearmente, o mesmo não ocorria com a intensidade de fluorescência. Se os constituintes do carbono orgânico dissolvido responsáveis pela fluorescência permanecessem inalterados, a intensidade de fluorescência deveria continuar a aumentar ao mesmo ritmo que a concentração. Não foi esta situação a verificada, o que parece indicar que os constituintes do carbono orgânico dissolvido responsáveis pela fluorescência sofrem alterações sazonais e que essas alterações resultam de processos fotodegradativos.

#### **4.2 Caracterização espectroscópica dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar**

A caracterização espectroscópica dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar foi efectuada com o objectivo de confirmar as alterações estruturais dos mesmos, indicadas pelos resultados obtidos com a aplicação das técnicas analíticas utilizadas durante o acompanhamento das experiências. Adicionalmente, permitiu conhecer o contributo desempenhado por estas alterações, na totalidade das alterações ocorridas nas soluções expostas à luz solar.

#### 4.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ do Estado Sólido ( $^{13}\text{C}$ -RMN)

Nos espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de estado sólido de substâncias húmicas a região de desvios químicos de 110-160ppm é uma zona que tem sido atribuída a átomos de carbono aromáticos e a região de desvios químicos de 0-110ppm tem sido atribuída a átomos de carbono alifáticos. Na Tabela 4.3 são apresentadas as principais zonas de desvios químicos dos espectros de substâncias húmicas referidas na literatura [26, 27]

Tabela 4.3- Principais zonas de desvios químicos nos espectros de substâncias húmicas

Zona de desvios químicos	Atribuída a:
10-50 ppm	átomos de carbono alifáticos saturados não substituídos
50-95 ppm	átomos de carbono de anéis de polissacarídeos e de átomos de carbono alifáticos ligados a um átomo de oxigénio ou um átomo de nitrogénio
95-110 ppm	átomos de carbono ligados a dois átomos de oxigénio por ligações simples, como por exemplo, carbonos anoméricos de polissacarídeos
110-160 ppm	átomos de carbonos aromáticos; inclui a região fenólica 140-160ppm
160-190 ppm	átomos de carbono de grupos carboxilo e éster
190-230ppm	átomos de carbono de grupos carbonilo (cetonas)

Foram obtidos os espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN dos ácidos fúlvicos iniciais e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar referente à 4ª experiência (Figura 4.7). Devido à quantidade de amostra dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar ser reduzida, o espectro desta amostra apresenta muito ruído, não sendo

possível efectuar uma interpretação rigorosa das alterações estruturais ocorridas. No entanto, são visíveis algumas diferenças.

No espectro dos ácidos fúlvicos antes da exposição solar identificam-se dois sinais bem definidos, ao desvio químico de ~55ppm e ao desvio químico de ~147ppm, típicos de estruturas de lenhinas [13, 14, 28, 29]. O sinal a ~55ppm é atribuído a grupos metoxilo análogos aos das unidades siringilo e guaiacilo das lenhinas [14, 26, 28, 29]. O sinal a ~147ppm é atribuído a átomos de carbono aromáticos substituídos com átomos de oxigénio, como é o caso dos átomos de carbono 3 e 4 das unidades siringilo e guaiacilo (Figura 4.8) e do átomo de carbono 5 nas unidades siringilo [14, 26, 29].

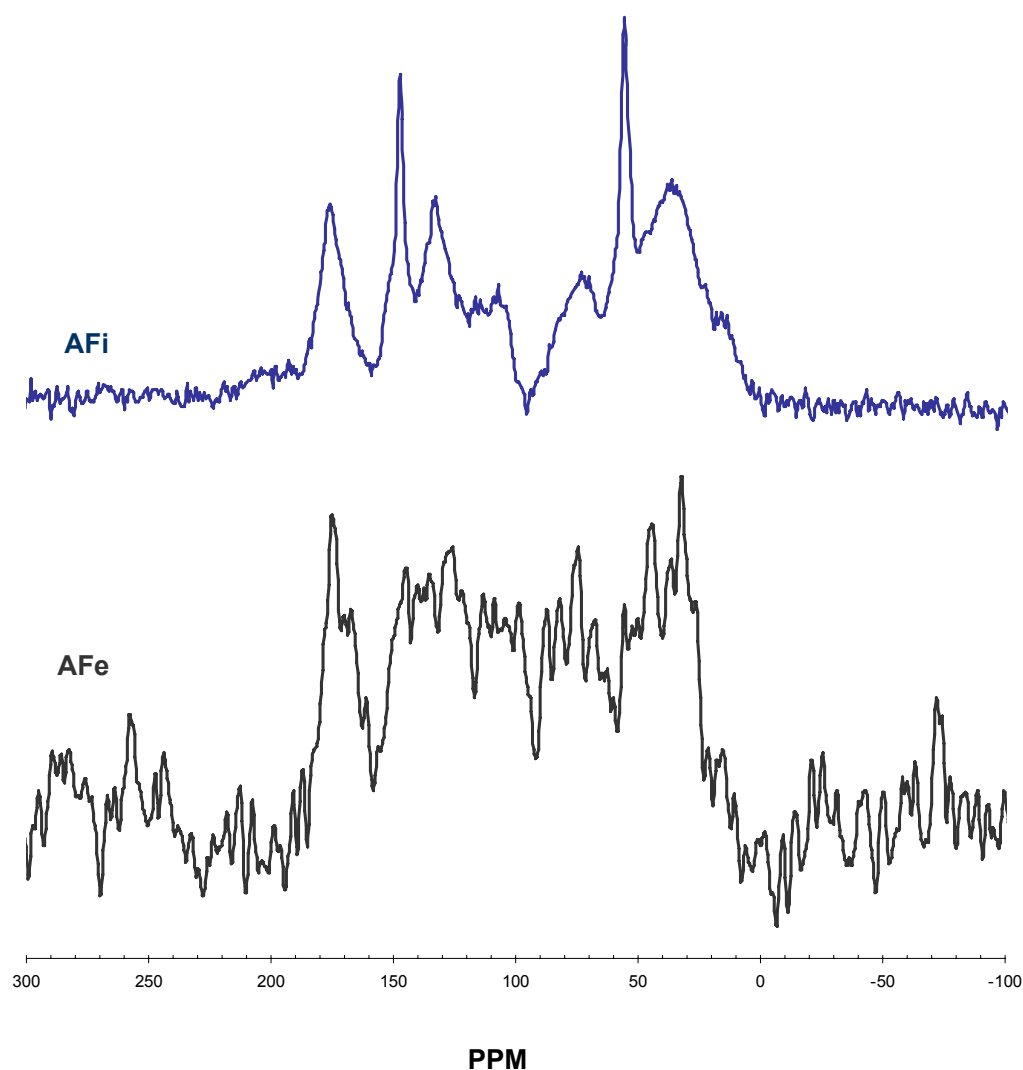
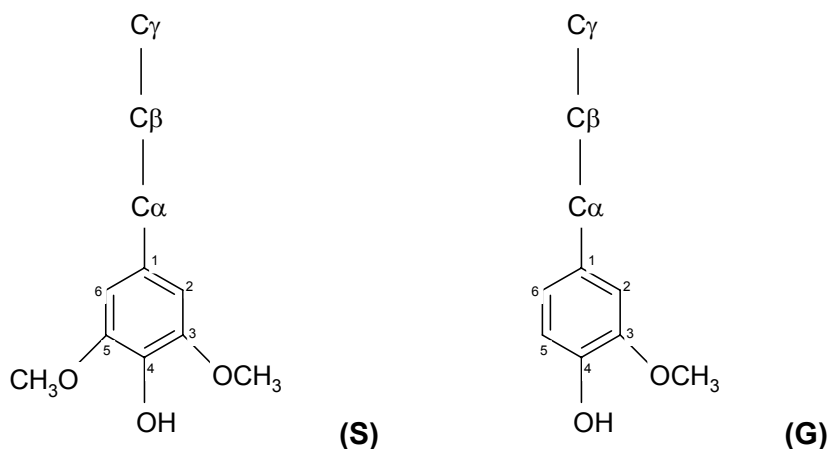


Figura 4.7- Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar (**AFe**) da 4ª experiência

Figura 4.8- Unidades siringilo (**S**) e guaiacilo (**G**) das lenhinas

Estes sinais não são visíveis no espectro dos ácidos fúlvicos após exposição solar, tal como acontece no espectro de substâncias húmicas de águas não poluídas com efluentes de fábricas de pasta de papel [13]. Alguns estudos desenvolvidos demonstraram que a lenhina é susceptível à foto-oxidação e a lenhina como componente integrante da matéria orgânica dissolvida é foto-reactiva [9, 31, 32]. Opsahl and Benner [9] estudaram a reactividade fotoquímica de unidades estruturais de lenhina na matéria orgânica dissolvida em amostras de água de rio e de mar. A análise da lenhina foi efectuada utilizando a oxidação com óxido cúprico das amostras secas, seguida de extracção e identificação dos produtos de degradação. Os principais produtos separados por cromatografia gasosa e identificados por espectroscopia de massa corresponderam a unidades siringilo e vanililo e a soma destes compostos fenólicos foi utilizada para representar a lenhina neste estudo. Na água proveniente do rio observaram uma diminuição de 75% da lenhina total dissolvida após 28 dias de exposição à luz solar, relativamente à água mantida no escuro. Inicialmente a amostra apresentava cerca de 90% da lenhina dissolvida sob a forma de material de elevado peso molecular; no entanto, após a exposição solar cerca de 80% da lenhina restante estava presente sob a forma de material de baixo peso molecular, o que corresponde a uma clara evidência da transformação da matéria orgânica de elevado peso molecular em moléculas relativamente pequenas, por acção da radiação solar. Para além disso, e para a mesma amostra, também observaram que a composição da lenhina dissolvida se modificava significativamente durante a foto-oxidação dada a alteração da abundância relativa dos diferentes compostos fenólicos resultantes da lenhina inicial. As alterações verificadas



para a amostra de água do mar coincidiram com as verificadas para a amostra de água de rio, porém a lenhina dissolvida de elevado peso molecular da amostra de água do mar mostrou ser mais resistente à foto-oxidação. Uma explicação possível para esta ocorrência é a de que na macromolécula de lenhina da água do mar existam ligações intermonoméricas mais resistentes às reacções fotoquímicas, tornando persistente uma fracção da molécula original. Outra possível explicação consiste na existência de uma protecção física por parte de outros componentes da matéria orgânica dissolvida ou a formação entre a lenhina e outros compostos de ligações resistentes à acção fotoquímica. Pode ainda resultar da perda ou diminuição ao longo do tempo (por degradação biológica ou fotoquímica) dos compostos intermediários que participam nas reacções fotoquímicas. Apesar de tudo, estes autores não conseguiram concluir sobre a forma como a lenhina é fotodegradada, se é directamente remineralizada ou primeiro é convertida em compostos de baixo peso molecular. Vähätalo *et al* [31] e Vähätalo e [32] sugerem que não ocorre apenas a mineralização. Segundo estes autores, as reacções fotoquímicas relacionadas com a lenhina resultam na diminuição do número de grupos metoxilo e no aumento do número de grupos hidroxilo, carboxilo e carbonilo. Estas reacções aumentam a solubilidade da lenhina na água. A foto-oxidação provoca a despolimerização da lenhina em monómeros fenólicos. Estes monómeros podem, posteriormente, sofrer nova foto-oxidação e dar origem a compostos alifáticos de baixo peso molecular.

Além do desaparecimento dos sinais típicos de lenhina, uma diferença perceptível encontrada no espectro dos ácidos fúlvicos após exposição solar relativamente aos ácidos fúlvicos iniciais é a relativa diminuição dos átomos de carbono alifáticos saturados não substituídos (10-50ppm) e o aumento dos carboidratos (50-110ppm), nomeadamente, dos carboidratos com átomos de carbono ligados a dois átomos de oxigénio por ligações simples, sugerindo uma alteração das cadeias alifáticas no sentido de uma maior substituição com oxigénio. Schmitt- Kopplin *et al* [33], em estudos de irradiação UV-Vis de soluções aquosas de substâncias húmicas do solo, observaram também um aumento dos sinais típicos de carboidratos nos espectros de ácidos húmicos após irradiação. O carbono orgânico dissolvido proveniente do solo é mais aromático relativamente ao proveniente das águas e apresenta como principal constituinte compostos aromáticos derivados de lenhina [25]. Engelhaupt *et al* [12] estudaram as diferenças nas propriedades da matéria de elevado peso molecular de águas naturais após exposição à luz solar simulada e verificaram o contrário, isto é, uma diminuição dos carboidratos. A matéria de elevado peso molecular foi separada e

concentrada por ultrafiltração e posteriormente irradiada. Após liofilização da solução irradiada, os autores compararam os espectros  $^{13}\text{C}$  RMN da matéria orgânica final e da matéria orgânica macromolecular inicial, tendo verificado uma diminuição dos carboidratos. No entanto, o espectro de RMN obtido não diz respeito às substâncias húmicas isoladas das amostras irradiadas, mas sim à totalidade da matéria orgânica retida numa membrana de 1kDa (amostra original) e a toda a matéria orgânica resultante da irradiação da anterior.

O sinal a ~174ppm também se apresenta bem visível nos espectros e resulta de átomos de carbono de grupos carboxilo. Este pico parece ter aumentado nos espectros dos ácidos fúlvicos após exposição solar. Resultados semelhantes foram obtidos por Schmitt- Kopplin *et al* [33] e por Kulovaara *et al* [24], no estudo do impacto da radiação ultravioleta a 254nm em soluções de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos isolados através de resinas XAD de águas naturais, e que investigaram as alterações estruturais em substâncias húmicas de solo em soluções aquosas que ocorrem durante a irradiação UV-Vis em atmosfera de oxigénio. Por sua vez, Engelhaupt *et al* [12] verificaram que o pico carboxílico (165-190ppm) aparecia dividido após a irradiação, com o aparecimento de um pico distinto à volta de 166ppm e, adicionalmente, um pico localizado entre 175-180ppm. A divisão do pico carboxílico após irradiação pode ter resultado da produção de compostos orgânicos de baixo peso molecular durante a irradiação da matéria orgânica de elevado peso molecular. Os fotoprodutos deste tipo que foram identificados são compostos carbonilo, muitos deles ácidos gordos e cetoácidos. Este resultado provavelmente deveu-se ao facto da amostra analisada, como já foi referido, ser representativa de toda a matéria orgânica e não das substâncias húmicas isoladas e, por isso, surgiram os picos referentes à matéria húmica e aos compostos de baixo peso molecular resultantes da fotodegradação, simultaneamente. Já Wiser *et al* [25] em estudos de fotodegradação de águas naturais verificaram, através de espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN de amostras do carbono orgânico isolado em resina XAD-8, que nas regiões a 160-190ppm e a 190-210ppm, representativas dos compostos carboxilo e carbonilo, as percentagens relativas diminuíram como resultado da exposição solar. Ao mesmo tempo, a percentagem relativa dos alifáticos totais (0-110ppm) aumentou. Os autores consideraram que a diminuição na percentagem de carbono carboxilo pode reflectir a fotodescarboxilação do DOC. Os resultados deste estudo mostraram que as alterações nas propriedades ópticas (diminuição da absorvância e da fluorescência, também verificadas) são acompanhadas pela diminuição dos constituintes carboxílicos e aromáticos do carbono aromático dissolvido. Mostram também que a descarboxilação a

CO<sub>2</sub> é possivelmente a fotoreacção dominante na matéria húmica aquática. No entanto, os resultados obtidos no presente trabalho não estão de acordo com a ocorrência deste tipo de alteração.

#### 4.2.2 Espectroscopia de FTIR

Na Figura 4.9 estão apresentados os espectros de infravermelho obtidos para os ácidos fúlvicos iniciais extraídos do efluente global (a partir dos quais foram preparadas todas as soluções para as várias experiências) e para os ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar.

Em comum, os espectros apresentam uma banda larga na zona 3600-2500cm<sup>-1</sup>, com intensidade máxima aproximadamente a 3420 cm<sup>-1</sup>, que tem sido atribuída a vibrações de elongação O-H de grupos carboxilo, grupos hidroxilo e grupos fenol [13, 14, 34, 35, 36]. Nesta região, sobrepostas a esta banda larga, surgem bandas mais estreitas, próximas dos 2900cm<sup>-1</sup>, normalmente atribuídas a vibrações de elongação C-H de grupos metilo e metileno de cadeias alifáticas [13, 14, 34, 35, 36]. Também em todos os espectros é visível uma banda intensa aproximadamente a 1720cm<sup>-1</sup> que pode ser atribuída a vibrações de elongação C=O, principalmente de grupos carboxilo [13, 14, 17, 34]. De acordo com os resultados obtidos através de <sup>13</sup>C RMN, nomeadamente o sinal a ~174ppm que parece ter sofrido um ligeiro aumento nos ácidos fúlvicos após exposição solar, seria expectável que também surgisse um aumento da intensidade da banda a 1720cm<sup>-1</sup> no espectro de FTIR dos mesmos, como indicação de maior abundância de grupos carboxílicos [37]. Nos espectros obtidos não é possível observar alterações significativas dessa banda. No entanto, esse aumento foi verificado por Schmitt- Koplin *et al* [33] em estudos de fotodegradação de ácidos húmicos extraídos de solo.

As principais diferenças entre os espectros verificam-se na região entre 1700-800cm<sup>-1</sup>, que se encontra representada de forma ampliada na Figura 4.10.

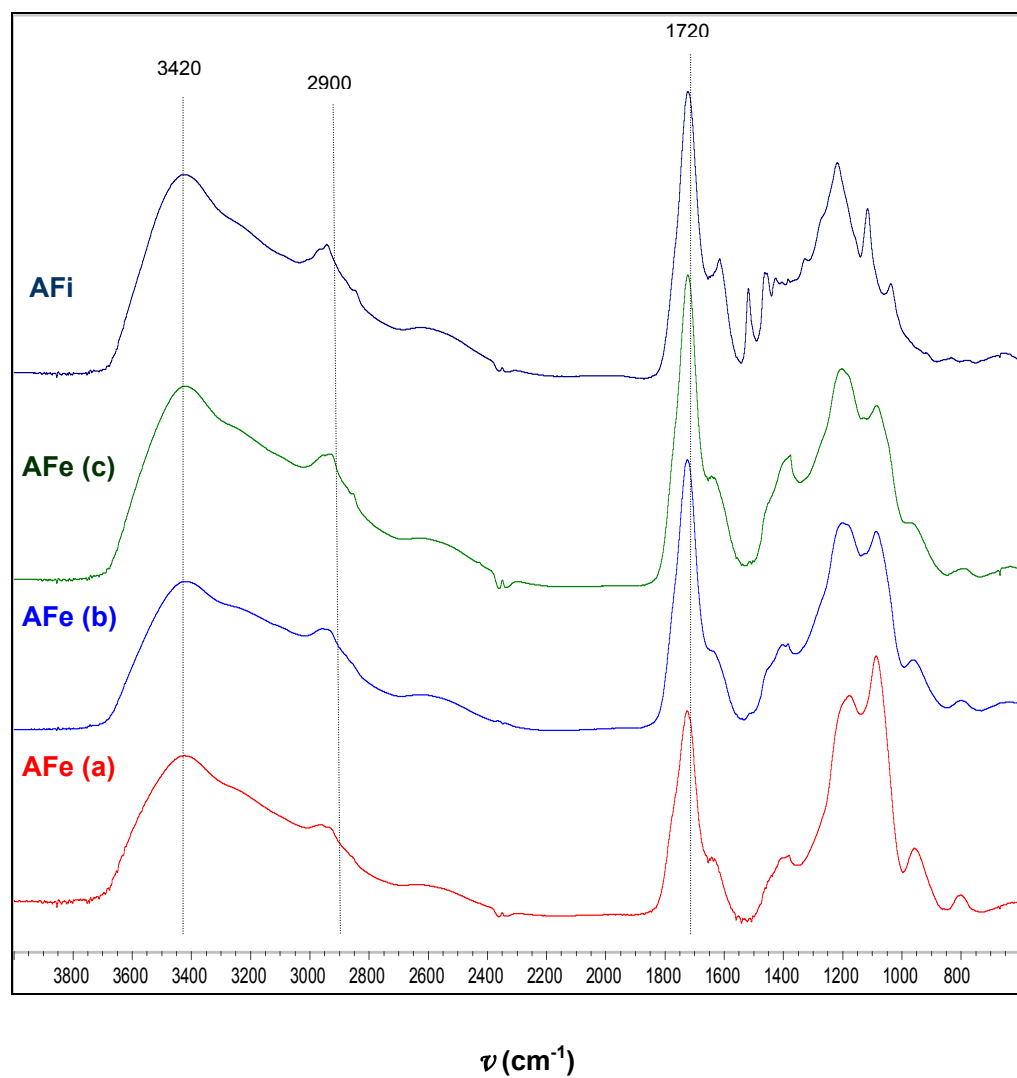


Figura 4.9- Espectros de infravermelho na região de 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$  dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar das 2ª (**AFe (a)**), 3ª (**AFe (b)**) e 4ª (**AFe (c)**) experiências.

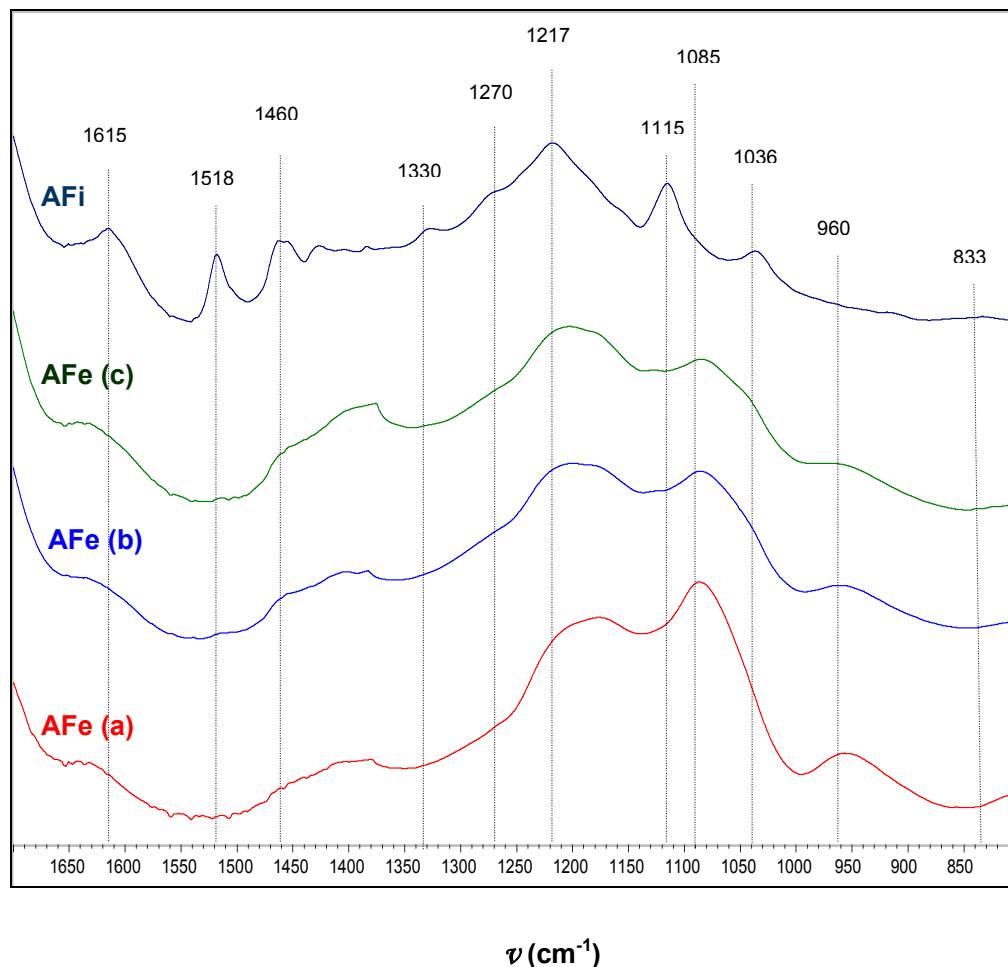


Figura 4.10- Espectros de infravermelho na região de 1700 a 800  $\text{cm}^{-1}$  dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar das 2ª (**AFe (a)**), 3ª (**AFe (b)**) e 4ª (**AFe (c)**) experiências

A banda múltipla a 1600-1660 $\text{cm}^{-1}$  tem sido atribuída a vibrações de elongação C=C de anéis aromáticos, nomeadamente de unidades siringilo e guaiacilo, constituintes estruturais da lenhina, assim como a vibrações de elongação C=O de grupos carbonilo conjugados [13, 17, 30, 35, 36, 38]. Esta região entre 1600-1660 $\text{cm}^{-1}$  pode ainda sofrer contribuição de deformação da água, proveniente da humidade das amostras [13, 17, 35].

A banda a  $1600\text{-}1660\text{cm}^{-1}$  é mais intensa no espectro dos ácidos fúlvicos iniciais onde se encontra centrada a cerca de  $1615\text{cm}^{-1}$  e provavelmente deve ser atribuída a vibrações de elongação C=C de anéis aromáticos [13, 14, 17, 35, 36]. Nos espectros dos ácidos fúlvicos após exposição solar esta banda, além de ser menos intensa, surge deslocada para comprimentos de onda maiores ( $\approx 1652\text{cm}^{-1}$ ), possivelmente por sofrer uma maior contribuição de vibrações de grupos carbonilo conjugados, enquanto que no espectro dos ácidos fúlvicos iniciais a banda a  $1615\text{cm}^{-1}$  tem maior contribuição de estruturas aromáticas. De igual forma, a banda a  $1518\text{cm}^{-1}$ , que também tem sido atribuída a vibrações de elongação C=C de anéis aromáticos [30], surge de forma bem nítida no espectro dos ácidos fúlvicos iniciais e é praticamente inexistente no espectro dos ácidos fúlvicos após exposição solar. As alterações observadas nas bandas a  $1600\text{-}1660\text{cm}^{-1}$  e a  $1518\text{cm}^{-1}$  sugerem um decréscimo do conteúdo em estruturas aromáticas devido à exposição solar. As unidades estruturais guaiacilo e siringilo que contribuem para as bandas de absorção referidas, também podem dar origem a bandas típicas a  $1270\text{cm}^{-1}$  e a  $1330\text{cm}^{-1}$ , respectivamente [13, 17, 39, 40], que, tal como as anteriores surgem mais intensas no espectro dos ácidos fúlvicos iniciais.

A banda a  $\sim 1460\text{cm}^{-1}$ , que surge mais intensa no espectro dos ácidos fúlvicos iniciais, tem sido atribuída a vibrações C-H de grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  de cadeias alifáticas [26, 34, 35, 41]. Assim, uma vez que esta banda diminui nos ácidos fúlvicos expostos à radiação solar e essa diminuição é tanto maior quanto maior foi a energia solar à qual os ácidos fúlvicos estiveram expostos, os resultados obtidos sugerem uma diminuição do conteúdo de cadeias alifáticas não substituídas, o que está de acordo com a ligeira diminuição da banda a  $2900\text{cm}^{-1}$  e com os resultados obtidos por RMN. Esta diminuição não significa um decréscimo da alifaticidade, o que estaria em contradição com os restantes resultados, podendo ser explicada considerando o aumento do conteúdo de cadeias alifáticas altamente oxigenadas. A formação destas cadeias é corroborada pelo aumento do sinal no intervalo 50-110ppm no espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN dos ácidos fúlvicos após exposição solar e pelo aparecimento da banda a  $\sim 1080\text{cm}^{-1}$ . A banda a  $\sim 1080\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída a deformações C-O de álcoois secundários e éteres alifáticos [34, 41]. Kovac et al [42] em amostras de macroagregados recolhidos em águas naturais também observaram esta banda ( $\sim 1088\text{cm}^{-1}$ ) e referem que as bandas fortes a  $1000\text{-}1100\text{cm}^{-1}$  têm origem em vibrações de ligações C-O de polissacarídeos e outras ligações C-O.

No espectro dos ácidos fúlvicos iniciais surgem duas bandas a  $1115\text{cm}^{-1}$  e a  $1036\text{cm}^{-1}$  que não são visíveis no espectro dos ácidos fúlvicos após exposição solar. A

primeira banda, a  $1115\text{ cm}^{-1}$ , é típica de estruturas de lenhina e deve-se a vibrações de anéis aromáticos combinadas com vibrações de ligações C-O [13, 17, 41, 43]. Michell [43] utilizou a banda a  $1118\text{ cm}^{-1}$  para quantificar o conteúdo de lenhina em licores negros do processo de produção de pasta de papel. A segunda, a  $1036\text{ cm}^{-1}$ , é uma banda comum em espectros de ácidos fúlvicos aquáticos e tem sido atribuída a vibrações de elongação C-O de carboidratos [13, 17]. No entanto, espectros de lenhinas apresentados em alguma literatura [13, 41] mostram uma banda bem nítida nesta zona, a qual tem sido atribuída a deformações C-H dos anéis aromáticos de unidades siringilo e guaiacilo. Esta banda dos espectros dos ácidos fúlvicos iniciais deve ser, muito provavelmente, atribuída a vibrações de deformação C-H de anéis aromáticos. Através da deconvolução de Fourier (Figura 4.11) é ainda possível observar duas bandas, que sofreram uma diminuição nos espectros dos ácidos fúlvicos após exposição solar: a  $833\text{ cm}^{-1}$  e a  $855\text{ cm}^{-1}$ . Estas bandas surgem em espectros de lenhinas e podem ser atribuídas a deformações C-H fora do plano nas posições 2 e 6 das unidades siringilo e a deformações C-H fora do plano nas posições 2, 5 e 6 de unidades guaiacilo, respectivamente [17, 41]. A diminuição destas bandas com a exposição solar está de acordo com uma degradação preferencial de estruturas típicas de lenhina já evidenciada noutras zonas do espectro. Além disso, a banda a  $855\text{ cm}^{-1}$  parece ter sofrido uma diminuição maior relativamente à banda a  $833\text{ cm}^{-1}$ , sugerindo que as unidades siringilo são mais susceptíveis à fotodegradação do que as unidades guaiacilo. Esta fotodegradação preferencial de unidades siringilo em detrimento de unidades de guaiacilo é corroborada pela maior diminuição da banda a  $1330\text{ cm}^{-1}$  relativamente à banda a  $1270\text{ cm}^{-1}$ . Ophsal and Benner [9] verificaram também que unidades siringilo da lenhina dissolvida em águas naturais são mais susceptíveis à fotodegradação em relação às unidades vanililo.

Nos espectros dos ácidos fúlvicos após exposição é ainda visível o aparecimento de uma banda a  $\sim 960\text{ cm}^{-1}$ . No entanto e até o momento, não foi possível explicar o seu aparecimento. A única justificação encontrada para esta banda pode ser atribuída a deformações fora do plano  $-\text{HC}=\text{CH}-$  (*trans*) em etilenos bi-substituídos [34, 41]. Neste estudo, não existem evidências para que esta atribuição seja considerada.

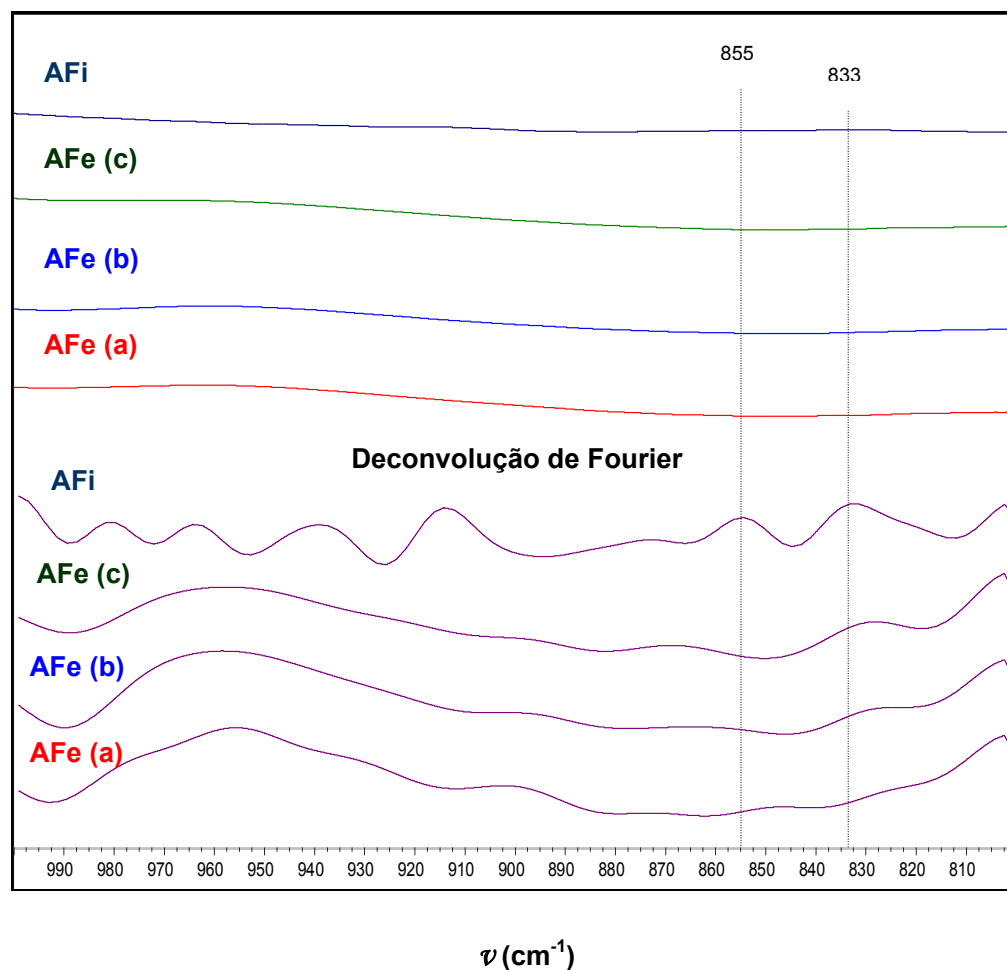


Figura 4.11- Espectros de infravermelho na região de 1000 a 800  $\text{cm}^{-1}$  dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos da solução após exposição solar das 2ª (**AFe (a)**), 3ª (**AFe (b)**) e 4ª (**AFe (c)**) experiências

#### 4.2.3 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

Os espectros de FMS para um  $\Delta\lambda$  de 60nm dos ácidos fúlvicos iniciais e dos ácidos fúlvicos após exposição solar encontram-se representados na Figura 4.12.

Nos espectros dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar a intensidade dos sinais aos  $\lambda_{\text{excitação}} \approx 280\text{nm}$  e  $\lambda_{\text{excitação}} \approx 320\text{nm}$  diminuem de forma acentuada em relação ao espectro dos ácidos fúlvicos iniciais.



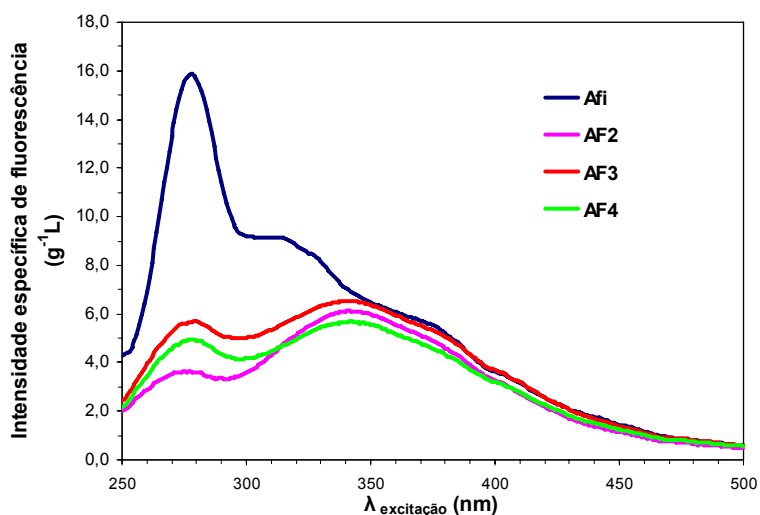


Figura 4.12- Espectros de FMS ( $\Delta\lambda=60\text{nm}$ ) dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente.

Na Figura 4.13 encontram-se representadas as diminuições da intensidade específica da fluorescência observadas para os sinais referidos.

Como já foi referido, o sinal ao  $\lambda_{\text{excitação}}=280\text{nm}$  está relacionado com estruturas derivadas das lenhinas [15, 17]. Foi a este  $\lambda_{\text{excitação}}$  que se verificou o maior decréscimo de fluorescência específica, o que quase explica a totalidade da diminuição de fluorescência observada durante o acompanhamento (Figura 4.6, secção 4.1.4).

O decréscimo ao  $\lambda_{\text{excitação}}=320\text{nm}$  é menor, relativamente ao anterior, mas este sinal torna-se menos evidente nos ácidos fúlvicos após exposição solar, sendo essa diminuição tanto maior quanto maior foi a energia solar a que os mesmos estiveram expostos. Nos espectros dos ácidos fúlvicos após irradiação este pico surge desviado para maiores  $\lambda_{\text{excitação}}$  ( $\approx 340\text{nm}$ ), que correspondem aos  $\lambda_{\text{excitação}}$  que apresentam maiores intensidades nos espectros de ácidos fúlvicos de águas naturais não contaminadas, tornando-os assim mais semelhantes entre si.

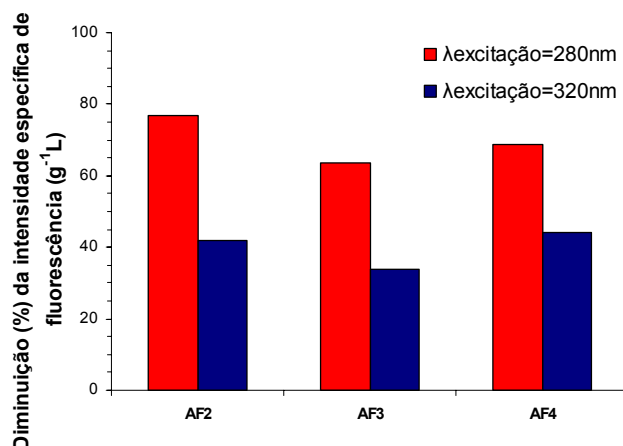


Figura 4.13- Diminuição (%) da intensidade específica de fluorescência ( $\text{g}^{-1}\text{L}$ ) observadas aos  $\lambda_{\text{excitação}}=280\text{nm}$  e  $\lambda_{\text{excitação}}=320\text{nm}$  dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (AF2), (AF3), (AF4) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente, em relação aos ácidos fúlvicos iniciais.

Mais uma vez, os resultados apontam para a degradação das estruturas típicas de lenhinas dos ácidos fúlvicos como consequência da exposição solar.

#### 4.2.4 Espectroscopia de UV- Vis

Os espectros de UV-Vis apresentados na Figura 4.14 mostram que os ácidos fúlvicos após exposição solar apresentam menor absortividade ao longo de todo o espectro, assim como o desaparecimento do ombro na região entre 250-300nm.

Os resultados anteriormente apresentados neste trabalho mostram o desaparecimento de sinais que evidenciam a presença de estruturas típicas das lenhinas, as quais também seriam responsáveis pelo aparecimento deste ombro. Kulovaara *et al* [24] estudaram o impacto da radiação UV a 254nm em soluções de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos isolados de águas naturais e verificaram que a absortividade a 254nm dos ácidos húmicos e fúlvicos após irradiação era menor, o que revela uma degradação das estruturas insaturadas. Este comportamento é idêntico ao observado no caso dos ácidos fúlvicos do efluente.

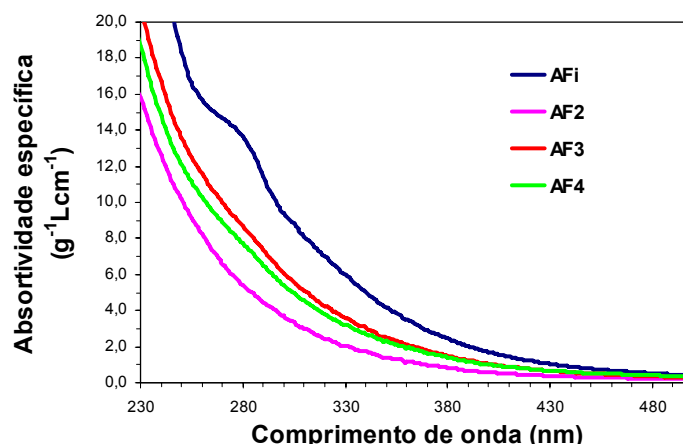


Figura 4.14- Espectros de UV-Vis (230-500nm) dos ácidos fúlvicos iniciais (**AFi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente.

A diminuição das absorvâncias específicas a 250nm, 280nm, e 365nm das soluções de ácidos fúlvicos após exposição solar em relação aos ácidos fúlvicos iniciais representado na Figura 4.15 mostra que os primeiros apresentam absorvâncias inferiores aos comprimentos de onda referidos. Em termos relativos, a diminuição da absorvância específica foi mais acentuada nos ácidos fúlvicos extraídos da solução correspondente à 2ª experiência que, como já foi referido, esteve exposta a uma maior quantidade de energia solar, sugerindo que quanto maior for a quantidade de energia solar recebida, menores serão as absorvâncias dos ácidos fúlvicos.

A diminuição das absorvâncias explica, pelo menos, cerca de 60% da perda de absorvância das soluções de ácidos fúlvicos após exposição solar observada durante o acompanhamento das experiências (Figura 4.2, secção 4.1.3). A diminuição das absorvâncias específicas dos ácidos fúlvicos isolados após exposição solar evidencia que as alterações observadas durante o acompanhamento ocorrem, sobretudo, devido à modificação estrutural da fracção fúlvica e não devido a uma diminuição da concentração, como consequência da mineralização.

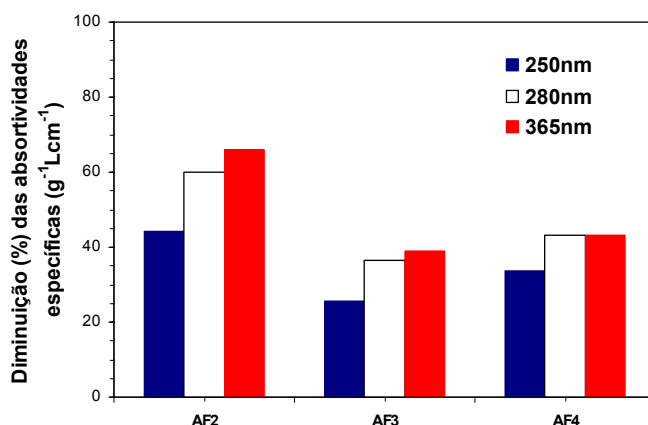


Figura 4.15 - Diminuição (%) das absorvidades específicas ( $\text{g}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ ) observadas aos comprimentos de onda de 250nm, de 280nm e de 365nm dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente, em relação aos ácidos fúlvicos iniciais.

A diminuição de absortividade fornece indícios quanto às alterações estruturais que ocorrem nas substâncias húmicas, nomeadamente, a diminuição da absortividade específica a 280nm. Em trabalhos realizados com matéria orgânica dissolvida em águas naturais foi estabelecida uma relação entre a absortividade específica a 280nm e a percentagem de aromaticidade, assim como com o tamanho molecular [18, 19]. De acordo com esses trabalhos, valores superiores de absortividade específica a 280nm indicam uma maior percentagem de aromaticidade, que por sua vez aumenta com o aumento do tamanho molecular. A Figura 4.16 representa os resultados obtidos para as estimativas das absorvidades específicas a 280nm para os ácidos fúlvicos iniciais e para os ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar.

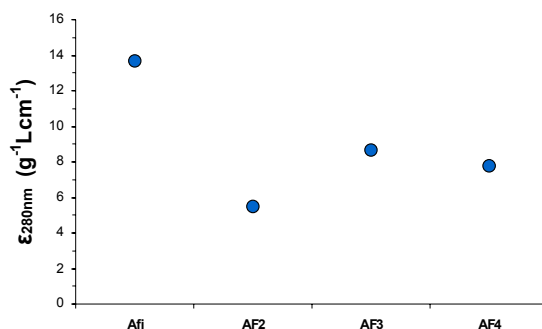


Figura 4.16 - Absortividades específicas observadas ao comprimento de onda de 280nm ( $\epsilon_{280\text{nm}}$  ( $\text{g}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ )) dos ácidos fúlvicos iniciais (**Afi**) e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (**AF2**), (**AF3**), (**AF4**) correspondentes às 2ª, 3ª e 4ª experiências, respectivamente

Verifica-se uma diminuição dos valores de absorvidade específica a 280nm para os ácidos fúlvicos após exposição solar, o que é indicador de uma menor percentagem de aromaticidade, estando de acordo com os resultados da caracterização por FTIR (secção 4.2.2).

Na Figura 4.17 estão representados os valores das razões  $E_2/E_3$  para os ácidos fúlvicos iniciais e para os ácidos fúlvicos após exposição solar.

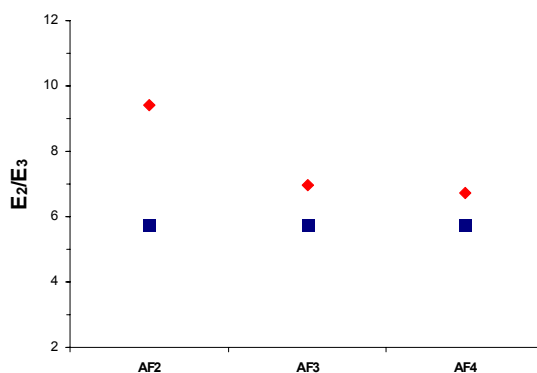


Figura 4.17 - Razão  $E_2/E_3$  para os ácidos fúlvicos iniciais (■) e para os ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar (♦), correspondentes a cada uma das experiências.

A tendência do aumento da razão  $E_2/E_3$  para os ácidos fúlvicos após exposição solar é notável. Tal como já foi referido anteriormente, a razão  $E_2/E_3$  de soluções de matéria húmica aumenta com a diminuição da aromaticidade e, também, com a diminuição do tamanho molecular da mesma [19]. Assim, os resultados obtidos corroboram, mais uma vez, os resultados da caracterização por FTIR, sugerindo que a exposição solar dos ácidos fúlvicos provoca uma diminuição da aromaticidade dos ácidos fúlvicos do efluente e que esse efeito é tanto mais significativo quanto maior for a quantidade de energia solar recebida.

A comparação da variação da razão  $E_2/E_3$  apresentada na Figura 4.17 com a variação da mesma razão para as soluções antes e após exposição solar observada durante o acompanhamento (Figura 4.3, secção 4.1.3) mostra que durante o acompanhamento a variação foi superior. Uma vez que a razão  $E_2/E_3$  está relacionada com a estrutura da matéria orgânica dissolvida, essa diferença na variação da razão  $E_2/E_3$  indicia que as alterações na composição da matéria orgânica dissolvida não poderão ser unicamente atribuídas às alterações na fracção fúlvica, mas também o devem a compostos de baixo peso molecular que, provavelmente, se formaram e não são extraíveis nas resinas XAD. Face ao exposto, pode-se concluir que o contributo das alterações estruturais de toda a matéria orgânica dissolvida que ocorrem durante a exposição solar das soluções de ácidos fúlvicos, em relação ao contributo da diminuição da concentração como consequência da mineralização, é ainda maior do que o sugerido pela diferença o decréscimo das absorvidades dos ácidos fúlvicos isolados.

Os resultados obtidos através da aplicação da espectroscopia de UV-Vis corroboram a diminuição da aromaticidade, já evidenciada anteriormente, e apontam para a ocorrência de uma diminuição do tamanho molecular dos ácidos fúlvicos do efluente.

### **4.3 Ultrafiltração sequencial dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global, de uma solução após exposição solar e dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar**

A fim de confirmar as indicações sugeridas na secção anterior procedeu-se a estudos de fraccionamento por ultrafiltração de três tipos de soluções: uma solução preparada com os ácidos fúlvicos extraídos do efluente global, que representam os ácidos fúlvicos iniciais antes da exposição solar (foram efectuadas três réplicas), uma solução preparada com os ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas e uma das soluções de ácidos fúlvicos que esteve exposta à radiação solar.

#### **4.3.1 Coeficientes de permeação obtidos por ultrafiltração sequencial**

Na Figura 4.18 encontram-se as representações gráficas resultante da aplicação da Equação (3.5) (secção 3.3.3) aos resultados das três réplicas da ultrafiltração sequencial dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global (AF11, AF12 e AF13), dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções das 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> experiências (AF2) e da solução irradiada da 1<sup>a</sup> experiência da degradação fotoquímica (SE).

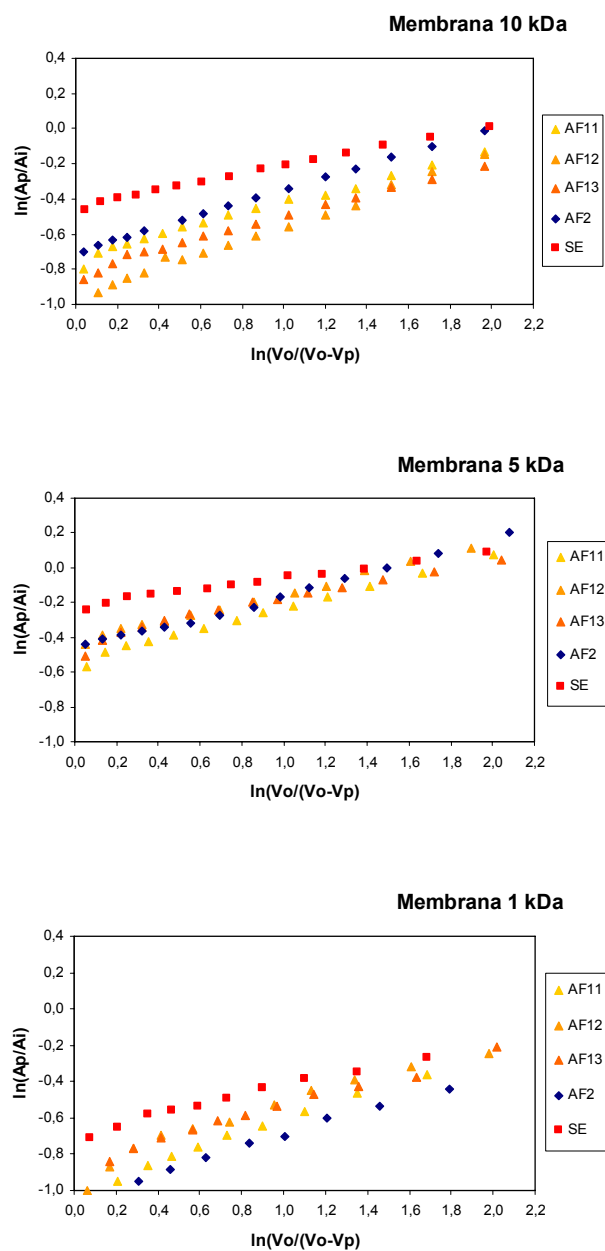


Figura 4.18 - Curvas de permeação resultantes da aplicação da Equação (3.5) aos resultados da ultrafiltração sequencial no modo de concentração, nas diferentes membranas, das três réplicas dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global (**AF1<sub>1</sub>**), (**AF1<sub>2</sub>**), (**AF1<sub>3</sub>**) dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à radiação solar das 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> experiências (**AF2**) e da solução final da 1<sup>a</sup> experiência de exposição solar (**SE**).



Foram estimados os coeficientes de correlação, dos declives e das ordenadas na origem (Tabela 4.4) das curvas de permeação da Figura 4.18 e os desvios padrão respectivos.

Tabela 4.4 – Estimativas dos declives, das ordenadas na origem e dos coeficientes de correlação das representações gráficas da Figura 4.18.

Ácidos fúlvicos	Membrana (kDa)	Declive		Ordenada na origem		Coeficiente de correlação (r)
		Valor	Desvio padrão	Valor	Desvio padrão	
AF1 <sub>1</sub>	10	0,3019	0,0052	-0,7253	0,0053	0,9981
	5	0,2992	0,0022	-0,5293	0,0024	0,9997
	1	0,3913	0,0125	-1,0004	0,0017	0,9964
AF1 <sub>2</sub>	10	0,4108	0,0073	-0,9635	0,0077	0,9981
	5	0,2812	0,0073	-0,4269	0,0074	0,9966
	1	0,3145	0,0144	-0,8344	0,0164	0,9927
AF1 <sub>3</sub>	10	0,3113	0,0063	-0,8140	0,0064	0,9974
	5	0,2307	0,0072	-0,4111	0,0078	0,9946
	1	0,3165	0,0120	-0,8545	0,0128	0,9937
AF2	10	0,3523	0,0020	-0,7616	0,0021	0,9998
	5	0,3161	0,0067	-0,4719	0,0070	0,9973
	1	0,3282	0,0012	-1,0379	0,0144	0,9947
SE	10	0,2322	0,0035	-0,4453	0,0036	0,9985
	5	0,1612	0,0059	-0,2248	0,0059	0,9927
	1	0,2540	0,0177	-0,6793	0,0110	0,9927

Verifica-se que são obtidas correlações satisfatórias entre a absorvância (250nm) dos solutos que permeiam cada uma das membranas e o logaritmo do factor de concentração ( $V_o/(V_o-V_p)$ ). Os coeficientes de correlação variam entre 0,9927 e 0,9998 e os desvios padrão relativos do declive e da ordenada na origem das rectas de permeação são inferiores a ~5%.

A partir do declive ( $1-P_c$ ) da recta de permeação é possível obter uma estimativa do coeficiente de retenção ( $R=1-P_c$ ) dos solutos com coeficientes de permeação superiores a zero. A Tabela 4.5 apresenta os coeficientes de permeação obtidos em cada tipo de ácidos fúlvicos para cada membrana utilizada e na Figura 4.19 esses mesmos valores são representados graficamente.

Tabela 4.5 – Coeficientes de permeação dos diferentes ácidos fúlvicos calculados para cada uma das membranas utilizadas.

Membrana (kDa)	Coeficiente de Permeação ( $P_c$ )				
	AF1 <sub>1</sub>	AF1 <sub>2</sub>	AF1 <sub>3</sub>	AF2	SE
10	0,70	0,58	0,69	0,65	0,77
5	0,70	0,72	0,77	0,68	0,84
1	0,61	0,68	0,68	0,67	0,75

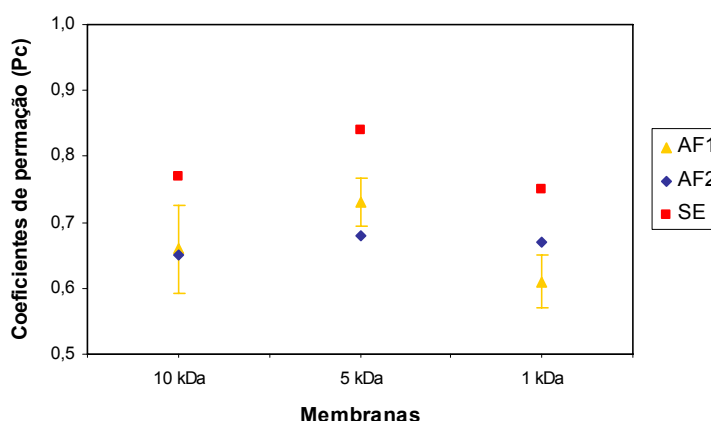


Figura 4.19 - Valores dos coeficientes de permeação dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global (**AF1**) (valores máximos e mínimos), dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à radiação solar das 3ª e 4ª experiências (**AF2**) e da solução final da 1ª experiência de exposição solar (**SE**).

Pela análise da Figura 4.19 verifica-se que os valores dos coeficientes de permeação da SE (solução final da 1ª experiência de exposição solar) apresentam-se, em todas as membranas, superiores aos restantes. Os AF2 (ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à radiação solar das 3ª e 4ª experiências) apresentam valor idêntico aos AF1 na membrana de 10 kDa, porém, apresentam valor inferior na membrana de 5 kDa e superior na membrana de 1 kDa. No entanto, a principal diferença verificada diz respeito à matéria orgânica final da 1ª experiência de exposição solar, cujos valores são superiores aos observados para os ácidos fúlvicos antes e após a exposição solar em todas as membranas. Isto poder-se-á dever ao facto de, em primeiro lugar, a energia solar recebida pela solução da 1ª experiência ter sido cerca do dobro da energia recebida pelas soluções das 3ª e 4ª experiências e em segundo lugar, o facto da exposição solar originar a formação de compostos orgânicos de baixo peso molecular que não foram extraídos pela resina XAD-8.

### 4.3.2 Distribuição por tamanhos moleculares obtida por ultrafiltração sequencial

Através do valor de  $A_0$  (quantificação dos solutos permeáveis presentes na solução inicial), calculado a partir da ordenada na origem de cada uma das representações lineares da Figura 4.18, foi possível obter uma estimativa da distribuição por tamanhos moleculares dos ácidos fúlvicos através da diferença entre a quantidade total de solutos na solução inicial ( $A_i$ ) e a quantidade de solutos permeáveis ( $A_0$ ). Uma vez que se adoptou um procedimento de ultrafiltração sequencial, a quantidade de solutos efectivamente retida em cada fracção foi calculada relativamente à solução original de ácidos fúlvicos. A Tabela 4.6 e a Figura 4.20 apresentam os resultados obtidos para cada tipo de ácidos fúlvicos.

Tabela 4.6 – Percentagens (%) de distribuição por tamanhos moleculares dos diferentes ácidos fúlvicos obtidos na ultrafiltração sequencial no modo de concentração.

Fracção	% de distribuição por tamanhos moleculares				
	AF1 <sub>1</sub>	AF1 <sub>2</sub>	AF1 <sub>3</sub>	AF2	SE
>10 kDa	31	35	36	23	17
10-5 kDa	11	6	9	7	4
5-1 kDa	23	22	21	33	25
<1 kDa	35	37	34	37	54

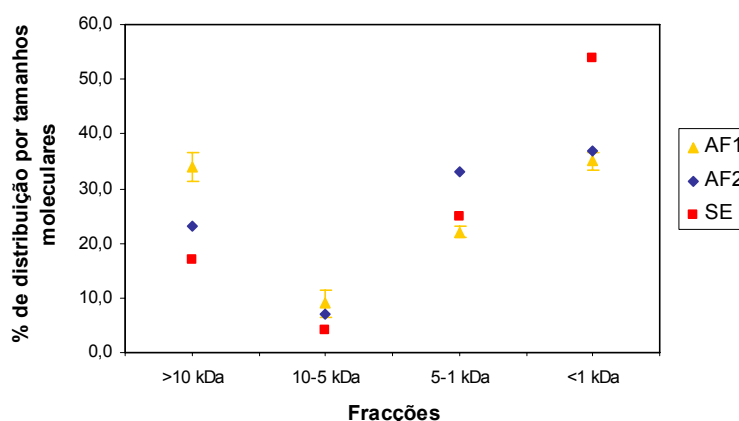


Figura 4.20 - Valores da percentagem de distribuição por tamanhos moleculares dos ácidos fúlvicos extraídos do efluente global (**AF1**) (valores máximos e mínimos), dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções expostas à radiação solar das 3ª e 4ª experiências (**AF2**) e da solução final da 1ª experiência de exposição solar (**SE**).

Os resultados da ultrafiltração da solução final da 1ª experiência mostram que 54% da matéria orgânica após exposição solar se encontra na fração <1kDa, isto é, corresponde a compostos de baixo peso molecular. Já no que respeita aos ácidos fúlvicos antes e após exposição solar, a principal diferença observada corresponde à diminuição da fração >10kDa e ao aumento da fração 10-5kDa. Estes resultados apontam no sentido de que a exposição solar leva a um aumento da matéria orgânica de baixo peso molecular não incluída na fração operacionalmente definida como ácidos fúlvicos (isto é, material extraível com resina XAD-8), pelo que a formação desta matéria orgânica só é evidenciada no fraccionamento da solução final da 1ª experiência de exposição solar. No entanto, há que ter em consideração que a solução da 1ª experiência esteve exposta a maior energia do que as restantes, o que também pode provocar maiores alterações no tamanho molecular de toda a matéria orgânica, incluindo a fração fúlvica.

## 4.4 Referências

- [1] Gao, H. and Zeep, R. G. (1998). Factors influencing photoreactions of dissolved organic matter in a coastal river of the Southeastern United States. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 2940-2946.
- [2] Bertilsson, S. and Tranvik, L. J. (2000). Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes. *Limnol. Oceanogr.* **45**, 753-762.
- [3] Anesio, A. M. and Granéli, W. (2003). Increased photoreactivity of DOC by acidification: Implications for the carbon cycle in humic lakes. *Limnol. Oceanogr.* **48**, 735-744.
- [4] Anesio, A. M. and Granéli, W. (2004). Photochemical mineralization of dissolved organic carbon in lakes of differing pH and humic content. *Arch. Hydrobiol.* **160**, 105-116.
- [5] Gennings, C., Molot, L. A. and Dillon, P. J. (2001). Enhanced photochemical loss of organic carbon in acidic waters. *Biogeochemistry* **52**, 339-354.
- [6] Kieber, R. J., Zhou, X. and Mopper, K. (1990). Formation of carbonyl compounds from UV- induced photodegradation of humic substances in natural waters: Fate of riverine carbon in the sea. *Limnol. Oceanogr.* **35**, 1503-1515.
- [7] Moran, M. A. and Zeep, R. G. (1997). Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **42**, 1307-1316.
- [8] De Hann, H. (1993). Solar UV- light penetration and photodegradation of humic substances in peaty lake water. *Limnol. Oceanogr.* **38**, 1072-1076.
- [9] Opsahl, S. and Benner, R. (1998). Photochemical reactivity of dissolved lignin in river and ocean waters. *Limnol. Oceanogr.* **43**, 1297-1304.
- [10] Osburn, C. L., Morris, D. P., Thorn, K. A. and Moeller, R. E. (2001). Chemical and optical changes in freshwater dissolved organic matter exposed to solar radiation. *Biogeochemistry* **54**, 251-278.

- [11] Amalay, A. and Bussi eres, D. (1996) In *Humic Substances and Organic Matter in Soil and Water Environments: characterization, transformations and interactions*, eds C. E. Clapp, M. H. B. Hayes, N. Senesi and S. M. Griffth, pp. 251-265, International Humic Substances Society. Department of Soil, Water and Climate, University of Minnesota, St. Paul, Mn USA.
- [12] Engelhaupt, E., Bianchi, T. S., Wetzel, R. G. and Tarr, M. A. (2003). Photochemical transformations and bacterial utilization of high- molecular- weight dissolved organic carbon in a Southern Louisiana tidal stream (Bayou Trepagnien). *Biogeochemistry* **62**, 39-58.
- [13] Santos, E. B. H. and Duarte, R. (1998). The influence of pulp and paper mill effluents on the composition of the humic fraction of aquatic organic matter. *Wat. Res.* **32**, 597-608
- [14] Santos, E. B. H., Duarte, R., Filipe, O. S. and Duarte, A. C. (2000). Structural characterisation of the coloured organic matter from an eucalyptos bleached kraft pulp mill effluent. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **78**, 333-342.
- [15] Santos, E. B. H., Filipe, O. S. Duarte, R., Pinto, H. and Duarte, A. C. (2000). Fluorescence as a tool for tracing the organic contamination from pulp mill effluents in surface waters. *Acta hydrochim. hydrobiol.* **28**, 364-371.
- [16] Duarte, R. (2001) Fraccionamento de substâncias húmicas provenientes de efluentes de fabrico de pasta kraft lançados em águas costeiras. *Tese de Dissertação de Mestrado*. Universidade de Aveiro.
- [17] Duarte, R., Santos, E. B. H. and Duarte, A. C. (2003). Spectroscopic characteristics of ultrafiltration fractions of fulvic and humic acids from a eucalyptus bleached kraft pulp mill effluent. *Wat. Res.* **37**, 4073-4080
- [18] Chin, Y., Aiken, G. and O'Loughlin (1994). Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* **28**, 1853-1858.
- [19] Peuravuori, J. and Pihlaja, K. (1997). Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Anal. Chim. Acta* **337**, 133-149.
- [20] Brinkmann, T., Sartorius, D. and Frimmel, F. H. (2003). Photobleaching of humic rich dissolved organic matter. *Aquat. Sci.* **65**, 415-424.

- [21] Scully, N. M., Cooper, W. J. and Tranvik, L. J. (2003). Photochemical effects on microbial activity in natural waters: the interaction of reactive oxygen species and dissolved organic matter. *FEMS Microbiol. Ecol.* **46**, 353-357.
- [22] Torrades, F., Pérez, M., Mansilla, H. D. and Peral, J. (2003). Experimental design of Fenton and photo- Fenton reactions for the treatment of cellulose bleaching effluents. *Chemosphere* **53**, 1211-1220.
- [23] Peuravuori, J. and Pihlaja, K. (1998). Multimethod characterization of lake aquatic humic matter isolated with sorbing solid and tangential membrane filtration. *Anal. Chim. Acta* **364**, 203-221.
- [24] Kulovaara, M., Corin, N., Backlund, P. and Tervo, J. (1996). Impact of UV<sub>254</sub>- radiation on aquatic humic substances. *Chemosphere* **33**, 783-790.
- [25] Waiser, M. J. and Robarts, R. D. (2004). Photodegradation of DOC in a shallow prairie wetland: evidence from seasonal changes in DOC optical properties and chemical characteristics. *Biogeochemistry* **69**, 263-284.
- [26] Hatcher, P. G., Breger, I. A., Dennis, L. W. and Maciel, G. E. (1983) In *Aquatic and Terrestrial Humic Materials*, eds R. F. Christman and E. T. Gjessing, pp. 31-81. Ann Arbor Science: Ann Arbor, MI.
- [27] Malcom, R. L. (1989) In *Humic Substances II- In Search of Structure*, eds M. H. B. Hayes, P. MacCarthy, R. L. Malcolm and R. S. Swift, pp. 340-372. John Wiley & Sons, Chichester, England.
- [28] Hatfield, G., Maciel, G. E., Erbatur, O. and Erbatur, G. (1987). Qualitative and quantitative analysis of solid lignin samples by carbon- 13 nuclear magnetic resonance spectrometry. *Anal. Chem.*, **59**, 172-179.
- [29] Virkki, L. (1992). Characterization of chlorolignins compared with humic substances using <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR and IR spectroscopy. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **49**, 149-161.
- [30] Plechanov, N., Josefsson, B., Dyrssen, D. and Lundquist, K. (1983) In *Aquatic and Terrestrial Humic Materials*, eds R. F. Christman and E. T. Gjessing, pp. 387-405. Ann Arbor Science: Ann Arbor, MI.



- [31] Vähätalo, A. V., Salonen, K., Salkinoja-Salonen, M. S. and Hatakka, A. (1999). Photochemical mineralization of synthetic lignin in lake waters indicates enhanced turnover of aromatic organic matter under solar radiation. *Biodegradation* **10**, 415-420.
- [32] Vähätalo, A. (2000). Role of photochemical reactions in the biogeochemical cycling of detrital carbon in aquatic environments. *Academic Dissertation in Microbiology*. University of Helsinki, Finland.
- [33] Schmitt- Kopplin, P., Hentkorn, N., Schulten, H-R. and Kettrup, A. (1998). Structural changes in a dissolved soil humic acid during photochemical degradation process under O<sub>2</sub> and N<sub>2</sub> atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 2531-2541.
- [34] Bellamy, L. I. (1975) *The Infrared Spectra of Complex Molecules*. Chapman and Hall Ltd. London, U. K..
- [35] Santos, M. E. B. H. (1994) Extracção, caracterização e comportamento ácido-base de substâncias húmicas aquáticas. *Tese de Doutoramento*. Universidade de Aveiro.
- [36] Stevenson, F. J. and Goh, K. M. (1971). Infrared spectra of humic acids and related substances. *Geochim. Cosmochim. Acta* **35**, 471-483.
- [37] Chen, J., Baohua, G., LeBoeuf, E. J., Pan, H. and Dai, S. (2002). Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere* **48**, 59-68.
- [38] MacCarthy, P. and Rice, I. A. (1985) In *Humic substances in soil, sediment and water: Geochemistry, Isolation and Characterization*, eds G. R. Aiken, D. McKnight, R. L. Wershaw and P. MacCarthy, pp. 527-559. John Willey, New York.
- [39] Dence, C. W. and Lyn, S. Y.(1992) In *Methods in Lignin Chemistry*, eds S. Y. Lin and C. W. Dence, pp. 3-20. Springer- Verlag, Berlin, Germany.
- [40] Fengel, D. and Wegner, G..(1983) *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. Walter de Gruyter, Berlin, Germany.
- [41] Faix, O. (1992) In *Methods in Lignin Chemistry*, eds S. Y. Lin and C. W. Dence, pp. 81-109. Springer- Verlag, Berlin, Germany.

[42] Kovac, N., Bajt, O., Faganeli, J., Sket, B. and Orel, B. (2002). Study of macroaggregate composition using FT-IR and  $^1\text{H}$ -NMR spectroscopy. *Mar. Chem.* **78**, 205-215.

[43] Michell, A. J. (1990). Kappa number determination in kraft pulping by FTIR spectroscopic measurements on spent liquor. *Tappi J.* **April**, 235.236.

## **5. CONCLUSÕES**



No presente trabalho foram efectuadas experiências de degradação de soluções de ácidos fúlvicos extraídos do efluente global de uma fábrica de pasta de papel kraft por acção da luz solar. Foram registados os espectros de UV- Vis e de FMS das soluções, antes e após a exposição solar, e efectuado o fraccionamento por ultrafiltração sequencial das mesmas. Adicionalmente, os ácidos fúlvicos das soluções submetidas a exposição solar foram extraídos e caracterizados por espectroscopia de UV- Vis, de FMS, de FTIR e de  $^{13}\text{C}$  RMN. Por último, uma solução destes ácidos fúlvicos extraídos foi fraccionada. Os resultados obtidos permitem retirar as conclusões que se seguem.

A radiação solar altera a distribuição de tamanhos moleculares da matéria orgânica dos efluentes. A matéria orgânica com tamanho molecular  $<1\text{kDa}$  nas soluções após a exposição solar representa mais de 50% da totalidade da matéria orgânica dissolvida, enquanto que nas soluções dos ácidos fúlvicos antes da exposição solar, a mesma fracção representa cerca de 35%.

A exposição solar provoca uma diminuição do pH das soluções de ácidos fúlvicos preparadas em água desionizada, a qual pode ser atribuída, pelo menos em parte, à formação de produtos ácidos de baixo peso molecular, resultantes da degradação fotoquímica da matéria orgânica dissolvida.

A aplicação das espectroscopias de UV-Vis e de FMS durante o acompanhamento das experiências de degradação das soluções de ácidos fúlvicos por acção da luz solar revelou que ocorre uma degradação preferencial das estruturas aromáticas típicas da lenhina.

A aplicação das técnicas analíticas de FTIR e de  $^{13}\text{C}$  RMN na caracterização estrutural dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar mostrou que, relativamente aos ácidos fúlvicos originais, ocorre uma diminuição das unidades estruturais aromáticas típicas de lenhinas. A diminuição dos átomos de carbono alifáticos

saturados não substituídos e o aumento de estruturas típicas dos carboidratos com átomos de carbono ligados por ligações simples a átomos de oxigênio, verificados nos ácidos fúlvicos após exposição solar, sugerem que ocorre uma alteração das cadeias alifáticas no sentido de uma maior substituição com oxigênio. Os resultados obtidos com a espectroscopia de  $^{13}\text{C}$  RMN permitem ainda verificar que a exposição solar leva a um aumento no conteúdo de átomos de carbono de grupos carboxilo e os resultados obtidos com espectroscopia de FTIR, adicionalmente, indiciam uma maior susceptibilidade à fotodegradação das unidades siringilo das lenhinas comparativamente com as unidades guaiacilo das mesmas.

A diminuição das intensidades específicas de fluorescência dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar indica que as alterações da estrutura dos ácidos fúlvicos são responsáveis pela quase totalidade da diminuição da fluorescência observada nas soluções de ácidos fúlvicos expostas à radiação solar. Além disso, os espectros dos ácidos fúlvicos dos efluentes após exposição solar são semelhantes aos dos ácidos fúlvicos de águas naturais não contaminadas por este tipo de efluente.

As alterações das absorvidades específicas dos ácidos fúlvicos após exposição solar explicam, pelo menos, cerca de 60% da perda de absorvância das soluções de ácidos fúlvicos após exposição solar.

A ultrafiltração dos ácidos fúlvicos extraídos das soluções após exposição solar revelou que o tamanho molecular médio destes diminuiu em relação aos ácidos fúlvicos originais.

Adicionalmente, os resultados obtidos permitem concluir que a matéria orgânica presente na solução após a exposição solar, relativamente à matéria orgânica original, para além de incluir maior quantidade de compostos de baixo peso molecular da fracção fúlvica, parece também incluir compostos de baixo peso molecular, como os ácidos carboxílicos simples referidos, que não são constituintes da fracção operacionalmente definida como fúlvica.

As alterações observadas no comportamento da matéria orgânica dos efluentes são semelhantes às alterações que têm sido referidas no comportamento da matéria orgânica de águas naturais quando expostas à radiação solar.